

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования

«Уральский федеральный университет имени первого Президента
России Б.Н. Ельцина»

На правах рукописи

АНТОСЮК ОЛЬГА НИКОЛАЕВНА

НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА *DROSOPHILA MELANOGASTER* В
УСЛОВИЯХ РАДИАЦИОННОГО И ХИМИЧЕСКОГО СТРЕССА

Специальность: 03.02.07 – генетика

Диссертация

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель -
кандидат биологических наук, доцент
Марвин Александр Михайлович
доктор биологических наук, доцент
Снегин Эдуард Анатольевич

Екатеринбург 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ	2
Список сокращений	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1. Влияние факторов стресса физической природы на жизнеспособность <i>Drosophila melanogaster</i>.....	11
1.1.1. Роль стресс - реакции в адаптации <i>Drosophila melanogaster</i>	11
1.1.2. Дорзально-мезоторакальный диск	12
1.1.3. Изменение жизнеспособности при воздействии рентген и γ - излучения, в частности: изменение плодовитости и частоты встречаемости леталей	14
1.1.4. Влияние на жизнеспособность инкорпорированной метки C^{14}	17
1.2. Влияние факторов стресса химической природы (цитостатиков) на жизнеспособность <i>Drosophila melanogaster</i>.....	18
1.2.1. Влияние Метотрексата (Methotrexate) на жизнеспособность <i>Drosophila melanogaster</i>	19
1.2.2. Влияние Митомицина -С (Mitomycin –С) на жизнеспособность <i>Drosophila melanogaster</i>	24
1.2.3. Влияние Циклофосфана (Cyclophosphamide) на жизнеспособность <i>Drosophila melanogaster</i>	26
1.2.4. Влияние Этопозида (Etoposide) на жизнеспособность <i>Drosophila melanogaster</i>	29
1.2.5. Влияние Гельданамицина (Geldanamycin) на жизнеспособность <i>Drosophila melanogaster</i>	31
1.3. Мобильные генетические элементы <i>Drosophila melanogaster</i>	33
Структура Р-элемента	35
Структура <i>hobo</i> -элемента	35
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	40
2.1. Методы изучения жизнеспособности (генотоксического	40
и тератогенного эффекта)	40
2.1.1. Метод исследования фертильности (плодовитости)	40
2.1.2. Метод изучения частоты гибели потомства на эмбриональной стадии развития (учет эмбриональных доминантных леталей)	41
2.1.3. Метод морфометрического анализа крыла.....	42
2.1.4. ПЦР-анализ <i>hobo</i> и <i>hobo</i> -подобных элементов	43
2.2. Флуоресцентная гибридизации in situ (FISH-анализ) линий дикого типа для установления присутствия полноразмерных копий <i>hobo</i> и Р – элемента	44
2.2.1 Приготовление давленных препаратов полноразмерных хромосом слюнных желез <i>Drosophila melanogaster</i>	44

2.2.3. Гибридизация <i>in situ</i> с препаратами политенных хромосом личинок <i>Drosophila melanogaster</i>	44
2.3. Метод воздействия физическими факторами стресса	45
2.4. Метод воздействия химическими факторами стресса	47
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	49
3.1. Динамика изменения параметров жизнеспособности при воздействии факторов стресса различной природы в линиях дикого типа, отловленных в природных популяциях	49
3.2. Морфометрический анализ крыла как метод оценки воздействия факторов стресса на геномную нестабильность	73
3.3. Сравнительный анализ результатов длительной направленной селекции на частоту повреждения крыла в линиях дикого типа в присутствии метотрексата и гибридных линиях гетерозиготных по <i>vestigial</i>	98
Заключение.....	118
Выводы.....	120
Список литературы	122
Приложение	136

Список сокращений

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДМСО – диметилсульфоксид

КФА – коэффициент флуктуирующей асимметрии

МГЭ – мобильные генетические элементы

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЭЛ – поздние эмбриональные летали

РЭЛ – ранние эмбриональные летали

УрФУ – уральский федеральный университет

CPH – cyclophosphamide (циклофосфамид)

DHFR – dihydrofolate reductase (дигидрофолатредуктаза)

EMS – ethylmethanesulphonate (этилметансульфонат)

FISH - fluorescence in situ hybridization

HRS – hobo related sequence

MMC – mitomycin-C

SAM - S-adenosylmethionine (S- аденозилметионин)

THF – tetrahydrofolate

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Изучение генетической нестабильности и устойчивости популяций в меняющихся условиях окружающей среды – одна из основных проблем эволюционной генетики и экологии. Онтогенетическая изменчивость, уровень мутагенеза изменяются при воздействии факторов стресса различной природы и являются ключевыми для изучения данной проблемы, которая остаётся актуальной в связи с увеличивающимся антропогенным воздействием, и соответственно возрастающим химическим и радиоактивным загрязнением биосферы.

Нестабильность генома – возросшая потенция генома к приобретению мутаций, вследствие нарушений различных процессов, участвующих в репликации и стабилизации генома. Явление геномной нестабильности проявляется в повреждении наследственных структур и низкой чувствительности к воздействию факторов стресса. Нестабильное состояние генома может возникать в соматических и половых клетках под воздействием факторов стресса разной природы таких, как радиация и химические агенты. В качестве модельного объекта использовались линии дикого типа *Drosophila melanogaster*. Большинство исследований по изучению индуцированной геномной нестабильности проведено на облученных высокими дозами ионизирующей радиации линиях *D. melanogaster* [Забанов С.А. и др., 1995; Schweizer P.M. et al., 2000]. Также проведен анализ индукции геномной нестабильности под действием низких хронических доз [Зайнуллин В.Г., Юшкова Е.А., 2008; Юшкова Е.А. и др., 2011; Kravets A.P. et al., 2010].

В ряде исследований, посвященных изучению геномной нестабильности как одной из составляющих развития патологических состояний и заболеваемости у населения исследуется естественная геномная нестабильность [Ayarpadikannan S., Kim H.S., 2014]. Естественная геномная нестабильность может являться причиной возникновения наследственных

синдромов, тогда как индуцированная геномная нестабильность проявляется в увеличении частот мутаций в различных генах, например, генах ответственных за репарацию либо трансформацию опухолевых клеток [Ranzani M. et al., 2013]. Подобные изменения в геноме приводят к ослаблению адаптационных резервов организма или становлению процессов так называемой дезадаптации, т.е. большей чувствительности к факторам стресса.

Из литературных источников известно, что геномная нестабильность может возникать при воздействии факторов стресса различной природы, но эффект, который следует за изменением активности мобильных генетических элементов может быть разным. Формируется повышенная чувствительность к определенным изменениям среды либо же адаптация к определённом фактору стресса [Chung H. et al., 2007].

Так, в отношении химического фактора стресса (лекарственных препаратов), в частности метотрексата, сначала на лейшмании [Kündig C. et al., 1999], а в последствие и на *D. melanogaster*, установлено, что адаптация формируется благодаря механизму амплификации соответствующего гена, определяющего устойчивость к метотрексату [Affleck J.G. et al., 2006]. Известно, что в изменчивых условиях среды лучшей приспособленностью и выживаемостью обладают особи с меньшей геномной стабильностью и отбираются организмы с низким уровнем репрессии мобильных генетических элементов. Соответственно в стабильных условиях среды отбор происходит в отношении организмов с более высоким уровнем сайленсинга мобильных генетических элементов [Галицкий В.А., 2009].

Цель работы: Охарактеризовать изменение стабильности генома, вызванное влиянием различных стрессовых факторов на линии дикого типа *D. melanogaster*.

Задачи исследования:

1. Провести анализ наследственной изменчивости в линиях дикого типа *D. melanogaster*: «Host» (Екатеринбург, 2005), «Биос-3» (Дзуреченск, 2007), «Белгород» (Белгород, 2006)

2. Оценить уровень фертильности, частоту гибели потомства на эмбриональной стадии развития после воздействия различных видов излучений (рентгеновское, γ -излучение и β -излучение) и цитостатических препаратов (гельданамицин, метотрексат, этопозид, циклофосфан и митомицин-С) как косвенные показатели геномной нестабильности.

3. Провести анализ гетерогенности расположения *P* и *hobo* элемента в линиях дикого типа *D. melanogaster*.

4. Исследовать воздействие стресса химической и физической природы на соматические клетки (изменение пространственной структуры крыла).

5. Провести сравнительный анализ линий дикого типа в отношении активизации геномной нестабильности при длительной направленной селекции в присутствии метотрексата.

6. Сравнить изменение пространственной структуры крыла у гибридных линий, полученных с использованием линий дикого типа и мутантной линии *vestigial*, подвергнутых длительной направленной селекции с изменением пространственной структуры крыла, с линиями, подвергшимися длительной направленной селекции в присутствии метотрексата.

Сформулирована гипотеза, лежащая в основе исследования: ионизирующее излучение, цитостатики, межлинейные скрещивания и длительная направленная селекция как стрессовые факторы приводят к изменению активности дестабилизации генома, что может иметь разные последствия для различных гетерогенных популяций *Drosophila melanogaster*.

Научная новизна: Впервые показано, что цитостатические препараты различного механизма действия могут вызывать сходный генотоксический и тератогенный эффект. Установлено, что на одну и ту же линию дикого типа

дрозофилы различные факторы стресса производят эффект, который может быть различным. Также, что резистентность разных линий, отловленных из природы при воздействии разных факторов стресса – различна и это в свою очередь позволяет искусственно классифицировать данные линии как устойчивые и чувствительные к определенным воздействиям. Впервые показано, что действие направленной селекции в совокупности с воздействием химического фактора стресса имеет различный адаптивный ответ: адаптивную силу, либо адаптивную слабость. Адаптивная слабость выражалась в гибели особей из линии «Белгород», претерпевших 76 поколений направленного отбора в присутствии метотрексата, что вполне могло быть следствием снижения уровня изменчивости на фоне уменьшения активности мобильных генетических элементов (в частности *hobo* - элемент). На основании проведенных исследований возможно создание теоретической модели становления наследственных заболеваний на фоне факторов антропогенной природы.

Научно-практическая значимость работы. Изучение действия различных видов ионизирующего излучения и лекарственных препаратов на активизацию геномной нестабильности с использованием как косвенных, так и прямых методов на линии дикого типа *D. melanogaster* как модельном объекте позволит понять механизмы становления адаптации и возможной роли мобильных генетических элементов в этом процессе. Полученные результаты могут быть использованы для решения ряда эколого-эволюционных и генетических проблем. Также результаты могут послужить основанием для более тщательной защиты генома при лучевой и химиотерапии у пациентов с применением индивидуального подхода. Результаты исследований используются в учебном процессе в Уральском федеральном университете имени первого Президента России Б.Н. Ельцина (ФГАОУ ВО УрФУ) (спецкурс «Дрозофила как модельная система».)

Апробация работы: Основные положения и результаты научных исследований были доложены на конференциях «Биосфера Земли: прошлое,

настоящее и будущее» ИЭРиЖ (Екатеринбург, 2008); конференции «Радиоактивность и радиоактивные элементы в среде обитания человека» (Томск, 2009); III Всероссийском с международным участием конгрессе студентов и аспирантов-биологов «Симбиоз-Россия – 2010» НГУ им. Н.И.Лобачевского (Нижний Новгород, 2010); II Международной конференции «Дрозофила в экспериментальной генетике и биологии» (Украина, Одесса, 2010); VI Международной научно-практической конференции «Тяжелые металлы и радионуклиды в окружающей среде» СГПИ (Казахстан, Семипалатинск, 2010); V Всероссийском с международным участием медико-биологическом конгрессе молодых ученых «Симбиоз-Россия 2012» ТГУ (Тверь, 2012); конференции «Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии» (Ростов-на-Дону, 2013); VI Всероссийском с международным участием конгресс молодых ученых-биологов «Симбиоз-Россия 2013» (Иркутск, 2013); VI Международной конференции «Дрозофила в экспериментальной генетике и биологии» (Украина, Львов, 2014); IV международной конференции «Современные проблемы генетики, радиобиологии, радиоэкологии и эволюции» (Санкт-Петербург, 2015).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 21 работа, из них 4 в изданиях, рекомендованных ВАК.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 165 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Список цитированной литературы включает 121 источник, в том числе 92 зарубежных работы. Работа иллюстрирована 8 таблицами и 72 рисунками.

Финансовая поддержка исследования. Результаты диссертационного исследования получены в рамках выполнения работ по гранту РФФИ: НК-14-04-31654 «Каскадный характер наследственной изменчивости в ходе длительного направленного отбора на примере *Drosophila melanogaster*».

Положения, выносимые на защиту:

1. Транспозоны (*P*, *hobo*) играют важную роль в становлении наследственной изменчивости в линиях дикого типа *Drosophila melanogaster*: «Host» (Екатеринбург, 2005), «Биос-3» (Дзуреченск, 2007), «Белгород» (Белгород, 2006).
2. При воздействии высокими дозами ионизирующего излучения или цитостатиками чувствительные линии *Drosophila melanogaster* характеризуются пониженной фертильностью и высокой частотой доминантной эмбриональной гибели потомства, тогда как устойчивые линии, характеризуются повышенной или в пределах нормы плодовитостью и пониженной или в пределах нормы летальностью потомства.
3. В ходе длительной направленной селекции на повреждение крыла типа «вырезка» в присутствии метотрексата наблюдается изменение стабильности генома в линиях дикого типа «Биос-3», «Белгород» и «Host».
4. Возникновение мутантных фенотипов *white*, *yellow*, *scalloped* у гибридных линий дрозофилы, полученных с использованием мутантной линии *vestigial*, в ходе селекции подтверждает наше предположение о возможной активизации транспозонов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Влияние факторов стресса физической природы на жизнеспособность *Drosophila melanogaster*

Одной из самых актуальных проблем в биологии и экологии является изучение влияния факторов стресса на живой организм, в большинстве случаев эти факторы имеют антропогенную природу. Наибольший интерес представляют такие антропогенные факторы, как: физические и химические факторы. Влияние данных факторов стресса изучается не только на разных модельных объектах [Li G. et al., 2015; Yun L., Agrawal A.F., 2014; Korol F. et al., 2006], но и на разных уровнях биологической организации [Nepoux V. et al., 2015; Laundrie B. et al., 2003; Malmendal A. et al., 2013]. При использовании в качестве модельного объекта *Drosophila melanogaster* изучается влияние радиации и цитостатических препаратов на уровне соматических и генеративных клеток, а также влияние обоих факторов стресса на генетическую нестабильность [Bhattacharjee P. et al., 2013; Anetor J.I., 2010].

На разных стадиях развития у *D. melanogaster* можно проследить рост многочисленных структур, но особый интерес для исследований в области биологии развития представляют дорзально - мезоторакальные диски или крыловые имагинальные диски [Fried P., Iber D., 2014; Garcia-Bellido A., Merriam J.R., 1971]. Их ключевые стадии формирования приходятся на третий личиночный возраст (примерно в районе 92 часов), поэтому вполне оправдано использовать их для подобных исследований.

1.1.1. Роль стресс - реакции в адаптации *Drosophila melanogaster*

Одним из основных элементов, способствующих адаптации организмов к неблагоприятным условиям среды, является стресс-реакция. Центральными звеньями стресс - реакции насекомых являются гормоны, контролирующие

их развитие и основные функции: ювенильный гормон, экдизон и биогенные амины (октопамин и дофамин). На различных видах дрозофилы показано что, для индивидуума адаптивной может являться способность к развитию стресс - реакции в ответ на неблагоприятные внешние воздействия, но на уровне популяции адаптивным является баланс особей, способных и неспособных к развитию стресс - реакции [Сапунов В.Б., 1980]. А нарушение развития стресс - реакции вызывает снижение приспособленности в нормальных условиях, но при этом дает преимущество в оставлении потомства в условиях стресса, и наоборот, снижение приспособленности приводит к нарушению развития стресс-реакции.

1.1.2. Дорзально-мезоторакальный диск

Развитие дрозофилы идет определенным образом: вначале бластодерма формирует поверхность развивающегося организма и является первичным эпителием, появляющимся в течение эмбрионального развития. Имагинальные диски появляются как инвагинации небольшого количества клеток этой бластодермы на парасегментарных границах [Fristrom D., 1968]. Во время третьего личиночного возраста в имагинальных дисках уже 10000-50000 клеток, к тому же они являются предшественниками структур взрослого насекомого. Дорзально - мезоторакальные диски является билатерально-симметричными, так как закладываются на правой и левой стороне [Adler P.N., 1984]. Во время развития эмбриона, а в последствие и куколки, клетки диска претерпевают множественные митотические деления, и при этом происходит экспоненциальный рост диска. В ходе личиночного развития в крыловом имагинальном диске кроме активного роста за счет митотической активности наблюдаются также и процессы детерминации для последующей дифференцировки структур имаго. К концу личиночной стадии диск становится полностью сформированным и представлен

многочисленными структурами, так называемыми «органными полями». Они в процессе метаморфоза дают структуры имаго (рис. 1).

По данным Abbott 1983 года после облучения личинок дрозофилы гамма-лучами дозой 1500 Рентген в имагинальных крыловых дисках наблюдалась гибель клеток в форме апоптоза [Abbott L.A., 1983]. Ультраструктура апоптозных клеток характеризуется фрагментацией мертвых клеток высокой конденсацией мембраносвязанных частиц. Апоптоз воздействует как на одиночные клетки, так и на их группы. Кроме апоптозной гибели клеток в дисках существует также и некроз. Он несет очаговый характер [Haynie J.L., 1977]. Апоптоз связан с запрограммированными процессами, а некроз - патологический ответ на параметры окружающей среды.

В исследовании морфогенеза и формирования рисунка крыла часто используют методики клонального анализа для стимуляции происхождения помеченных клеток, которые видны как пятна волосков мутантного крыла на крыле взрослой мухи [Danesi C.C. et al., 2010; Aydemir N. et al., 2009]. Так обширная клеточная смерть вызывается облучением [Kylsten P., 1997]. Если мертвые клетки распределены, располагаясь маленькими группами или отдельно, и быстро ликвидируются, как в апоптозе, то смерть клеток можно ожидать при минимальном эффекте на клеточный рост. Но смерть больших групп клеток, как при некрозе, прерывает нормальные процессы роста диска крыла и требует обширной реорганизации, например, замена клеток в период реорганизации [Abbott L.A., 1983]. Таким образом, когда формирование клонов связано с восстановлением повреждений, особенности их анатомии таковы, что не позволяют объяснить наличие определенной формы клеток и строгой целостности клонов.

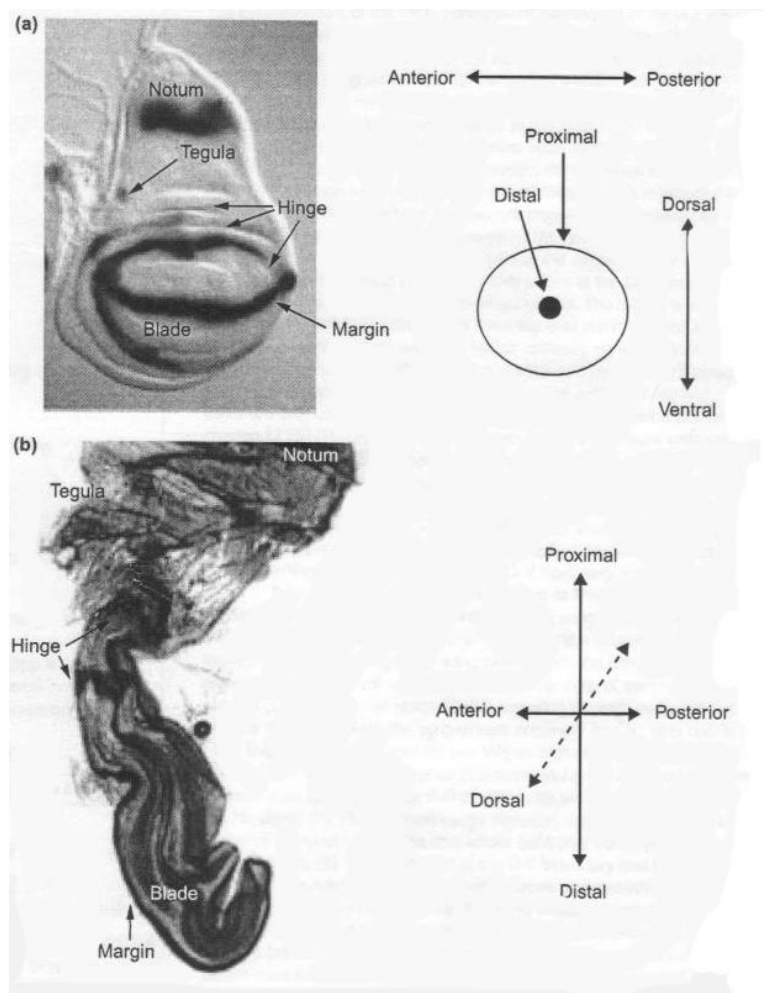


Рис. 1. Ранние стадии развития крыла. Показан дорзально-мезоторакальный имагинальный диск *Drosophila melanogaster* и зачаток крыла [Haynie J.L., 1977].

1.1.3. Изменение жизнеспособности при воздействии рентген и γ -излучения, в частности: изменение плодовитости и частоты встречаемости леталей

Судя по литературным данным [Nasrat G.E., 1967], что после того, как на самку дрозофилы воздействуют γ - излучением дозой 1500 Р, у нее не происходит каких-либо заметных изменений в плодовитости, показатели которой сходны с контролем. Что же касается эмбриональных леталей, то их количество увеличивается только в первые дни после облучения, затем же

этот показатель также становится сходным с контролем, а в дальнейшем даже несколько ниже нормы. На процессы оогенеза такая доза γ - облучения влияет слабо, что также было подтверждено в некоторых работах [Puro J., 1967]. Установлено отсутствие свойства дозоэффекта в облученных ооцитах дрозофилы [Markowitz E.H., 1970]. К тому же выяснилось, что повреждения устраняются (как при острых, так и при хронических дозах), в связи с тем, что при разных видах повреждения включаются разные механизмы репарации. В данной работе используется гамма-излучение дозами 2000 и 4000 Рентген.

Установлено, что в работах, производимых на *Drosophila simulans* с использованием γ -излучения уже при дозе 2000 Рентген возникают видимые мутации, такие как scute bristles, curly, aristless, compressed body и head twisted [Hassan M., 2001].

Были произведены опыты с увеличением дозы облучения рентгеновским излучением, из них прослеживается снижение плодовитости и рост эмбриональной летальности. К тому же в данных опытах была выяснена критическая доза облучения, несущая в последствие 100% гибель отложенных яиц [Мыльников С.В., 1992].

Представляют интерес работы с использованием γ - излучения на разных стадиях развития *Drosophila melanogaster*, а именно: яйца, личинки разных возрастов, куколки и имаго. Одной из таких работ является работа с γ -излучением [Nasrat E.G., 1967]. В ней использует Co^{60} как источник γ -излучения, к тому же в работе берется ставшая уже классической доза 1500 Рентген. Правда, как и в некоторых других работах, здесь использовались только облученные самцы. Эти исследования интересны тем, что в них показано отсутствие взаимного влияния химического и физического факторов на летальность, так как суммарный их эффект оказался значительно ниже, чем действие этих факторов в отдельности.

Также была проведена работа по облучению непосредственно самих яиц [Волчков Ю.А., 1972]. Дозой рентгеновских лучей называется

поглощенная энергия рентгеновских лучей, отнесенная к единице объема освещаемой среды. Измеряется во внесистемных единицах - рентген (Р). Дозу в этих опытах он брал 2500-3000 Рентген - но и при такой дозе уже можно было наблюдать как ранние доминантные эмбриональные летали (РЭЛ), так и поздние доминантные эмбриональные летали (ПЭЛ), хотя, несмотря на это при дозе 8000-8500 Рентген встречается лишь до 50% неразвившихся яиц.

Но наибольший интерес из всех работ с облучением представляют собой работы Mavor J. W. [Mavor J.W, 1925]. Он сравнивал влияние рентгена на разных стадиях жизненного цикла дрозофилы. Известно, что рентген - лучи – это электромагнитные волны примерно той же природы, как и обычный свет, но с более короткой длиной волны. Изучение биологических эффектов показывает важность 3-х факторов: длины волны или спектра, интенсивности и длительности дозы. Именно эти три фактора фундаментально важны в изучении биологического эффекта рентгена.

Mavor J. W. ставил 4 группы экспериментов: облучение рентген - лучами яиц, личинок, куколок, имаго. Как в случае с яйцами, так и в случае с личинками имеются некоторые доказательства замедления развития, а именно: облученные личинки окукливались позже, а если окукливались все, то появлялись как мухи позже, чем в контроле. К тому же в проводимых экспериментах не обнаружено аномалий у мух, вследствие облучения личинок. Эксперименты на куколках показали, что спустя 5 дней, после облучения особей, 40% мух вылетело из куколок, облученных дозой 5000 Р. Но уже 100% вылетело из куколок, облученных дозой 3000 Р. Доза, убивающая 50% через 5 дней после облучения – 4500 Р. При дозах 200 и 400 Р после 10 дней, как произошло облучение, самцы выживали также хорошо, как самки. А в случае доз 2000, 3000 и 5000 Рентген – самцы умирали раньше самок. Эти эксперименты подтверждают наличие половых различий к такому фактору, как радиационное излучение.

Несмотря на то, что в отношении биологического эффекта радиации проделано огромное количество работ, ни в одном литературном источнике не просматривается вопрос различия между рентген и γ -излучением. Почему они оказывают столь разный эффект? Предположительно, эти различия базируются на физических свойствах, то есть на различных энергиях квантов этих двух видах ионизирующих излучений при воздействии их на живые системы. Известно, что мощность рентгеновского излучения резко уменьшается по экспоненте в зависимости от расстояния до объекта излучения (обратно пропорциональна квадрату расстояния). В силу этого вполне возможно, что в случае рентген - излучения доза может сильно варьировать, в зависимости от того на каком расстоянии находится облучаемый материал от источника.

1.1.4. Влияние на жизнеспособность инкорпорированной метки C^{14}

Дрозофила является удобным модельным объектом при изучении биологического эффекта инкорпорированной метки, путем введения её трофическим путем через питательную среду. Как известно, лейцин активно включается в ходе метаболизма практически в любые ткани развивающейся личинки, в том числе и гонады [Rüegg J.C., 1968]. При сравнительно небольших размерах тела личинок дрозофилы воздействию β - излучения подвергаются все органы и ткани, а, следовательно, и предшественники половых клеток. Хотя основные стадии мейоза у самок дрозофилы протекают на стадии ранней предкуколки и куколки, радиоактивная метка может быть обнаружена автордиографически в гонадах и самцов, и самок [Kaplan W.D., 1956]. Всё это, несомненно, накладывает отпечаток на функционирование систем ответственных за оогенез и сперматогенез, и в первую очередь эндокринную систему. Биологический эффект инкорпорированной метки с использованием как C^{14} , H^3 так и P^{32} на примере дрозофилы уже

неоднократно изучался [King R.S., 1954; Olivieri G., Olivieri A., 1965]. В ходе таких работ исследователями использовались различные методы введения радиоактивной метки с применением химических соединений с учетом их способности включаться в процессы метаболизма клетки [Täuber U., 1986]. При изучении биологического эффекта β - излучения на дрозофиле наиболее часто, судя по литературным данным, применялись следующие органические соединения: сахароза, глюкоза, гуанин, гуанозин, глицин, валин и лейцин [Purdom C.E., 1965; Назаров А.К., 1975]. В работах подобного рода, как правило, основное внимание уделялось изучению влияния на биологический эффект таких параметров, как концентрация введенной метки, длительность экспозиции, метод введения метки, интенсивность и локализация включения метки в такие ткани как лимфа, жировое тело, имагинальные диски, гонады, белок и т.д.

1.2. Влияние факторов стресса химической природы (цитостатиков) на жизнеспособность *Drosophila melanogaster*

Цитостатические препараты по механизму действия классифицируются на следующие группы:

1. Антиметаболиты – действуют на синтез ДНК, например, ингибируя дигидрофолатредуктазы (аминоптерин, метотрексат);
2. Цитостатики антибиотического ряда (актиномицин Д, митомицин-С);
3. Алкилирующие агенты (например, циклофосфан);
4. Препараты растительного происхождения (колхицин, этопозид);
5. Препараты, ингибирующие активность белков теплового шока, например, Hsp90, Hsp70 (гельданамицин);

Наибольшее количество исследований посвящено воздействию гельданамицина и метотрексата на биологические объекты.

1.2.1. Влияние Метотрексата (Methotrexate) на жизнеспособность *Drosophila melanogaster*

Метотрексат (methotrexate - MTX), синтетический аналог соли фолиевой кислоты, - сильно связывающийся ингибитор дигидрофолатредуктазы (DHFR), ключевой энзим в биосинтезе пуринов, тимидилата и некоторых аминокислот (структурная формула приведена на рисунке 2). Как следствие, MTX снижает уровень восстановленных фолатов, связанных с синтезом ДНК и приводит к остановке быстро пролиферирующих клеток, что делает её избирательным лекарством для использования при разнообразных канцерогенных и аутоиммунных нарушениях. MTX также известный тератоген, проверенный для всех высших животных, но совсем мало информации об эффекте данного препарата на беспозвоночных.

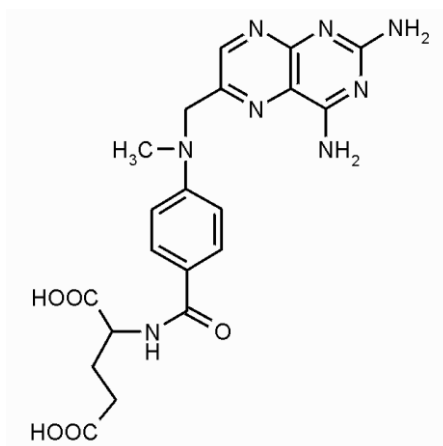


Рис. 2. Структурная формула метотрексата.

Дигидрофолатредуктаза катализирует преобразование фолатов до дигидрофолатов, а затем – до тетрагидрофолатов (THF). THF – ключевой продукт активности DHFR, используемый, как кофактор для транспортировки карбоновых единиц (C) и THF – зависимых реакций. Таким образом, участвует в синтезе тимидилатов и пуринов (Al-Batayneh K.M., 2001). Также THF участвует в продукции S-аденозилметионина (SAM), который в свою очередь является субстратом для метилирования посредством ДНК метилтрансферазы и играет ключевую роль в

эпигенетических механизмах, включая корректную генную экспрессию во время эмбриогенеза. У дрозофилы ген DHFR – 1 kb, а у млекопитающих более комплексный и длинный – 30 kb. Более простое устройство гена DHFR у *Drosophila melanogaster* может служить моделью, которая может быть полезна для понимания геномного ответа в ответ на стресс, вызванный действием метотрексата у млекопитающих [Нао Н. et al., 1996]. Исследуются локусы *D. melanogaster* ортологичные человеческим генам [Kislukhin G. et al., 2013; King E.G. et al., 2014]. В статье авторами выдвигается предположение о корреляции перемещений мобильных генетических элементов (МГЭ) с воздействием метотрексатом (перемещение транспозонов ассоциируют с токсичностью метотрексата). К тому же клеточные культуры эмбриональных клеток *D. melanogaster* могут стабильно трансформироваться транспозицией *P* – элемента.

Показано, что МТХ оказывает небольшое влияние на выживаемость взрослых особей *D. melanogaster*, но значительно сокращает плодовитость. Редуцированный яйцеклад, нарушенная морфология яйца приводят практически к стерильности самок, обработанных метотрексатом. Редкая выживаемость потомства обнаруживает аномалии развития, включающие личиночные опухоли [Affleck J.G. et al., 2006; Affleck J.G., Walker V.K., 2007], а также дефекты щетин, крыльев, глаз и ног.

МТХ влияет не только на стадии развития яйца, но также на постэмбриональной стадии. Хотя процент вылупления обычно крайне низок, некоторое количество личинок, переживших МТХ-обработку материнских особей, обнаруживают аномалии. Многие личинки при этом могут иметь меланотические опухоли, подтверждающиеся чёрными вставками в клетках, говорящие о клеточной смерти [Legent K. et al., 2006].

Также исследователями были получены клеточные линии, культивируемые на метотрексате (клеточная линия подвергалась отбору в течение 4 лет), аминоптерине и других препаратах [Neumann K. et al., 2003]. Формирование устойчивости происходило за счет культивирования в

присутствии различных концентраций метотрексата. Изолировали ген дигидрофолатредуктазы (DHFR) после чего производили его секвенирование, в ходе которого устанавливали, что в данной клеточной культуре происходила одиночная замена Т на А (не синонимичная), и соответственно, замена аминокислоты, что в свою очередь может обуславливать мутантный фенотип в клетках *D. melanogaster*. В данной работе установлено также, что мутация в позиции 30 активного сайта дигидрофолатредуктазы (трехмерная модель показана на рисунке 3) является ключевой при взаимодействии с субстратом и тем самым обуславливает высокий уровень устойчивости к метотрексату даже при 100-2000 кратном увеличении дозы гена (амплификация) в других организмах (культивировалась в яичниках китайского хомячка).

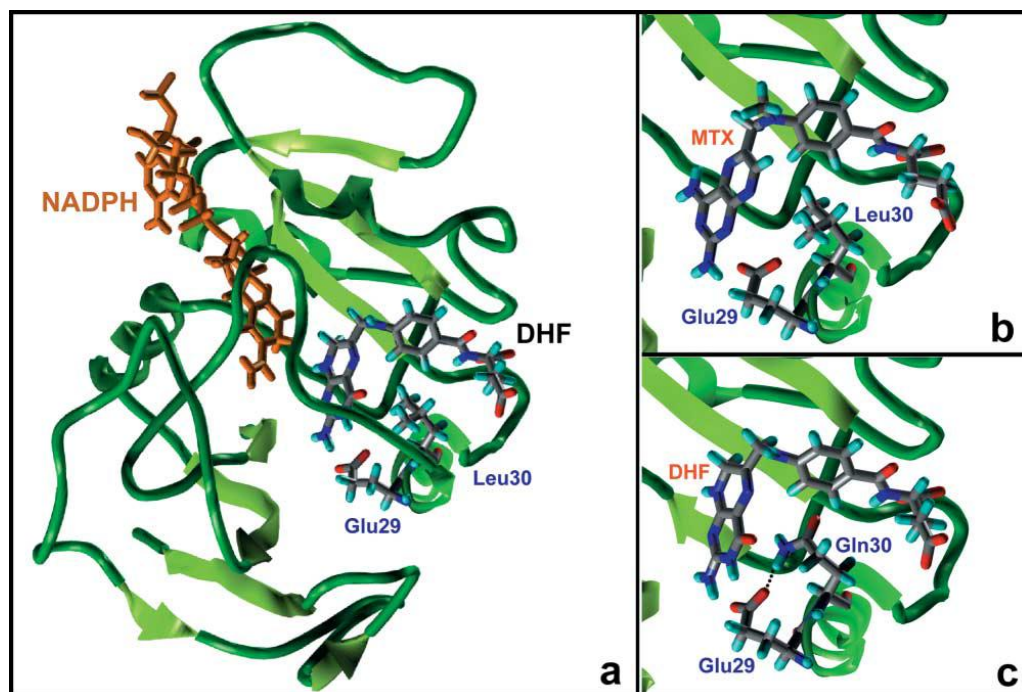


Рис. 3. Молекулярное моделирование активного сайта DHFR у *Drosophila*. а – DHFR особей дикого типа, взаимодействующая с DHF и NADPH, б – MTX в активном сайте, с – Leu30Gln мутанты DHFR, взаимодействующая с DHF [Neumann K., 2003].

Генная амплификация – это физиологический процесс в ходе развития дрозофилы (схема приведена на рисунке 4). В условиях стресса данный механизм сверхэкспрессии генов может происходить и у млекопитающих, например, при влиянии цитостатических препаратов [Matsui A. et al., 2013].

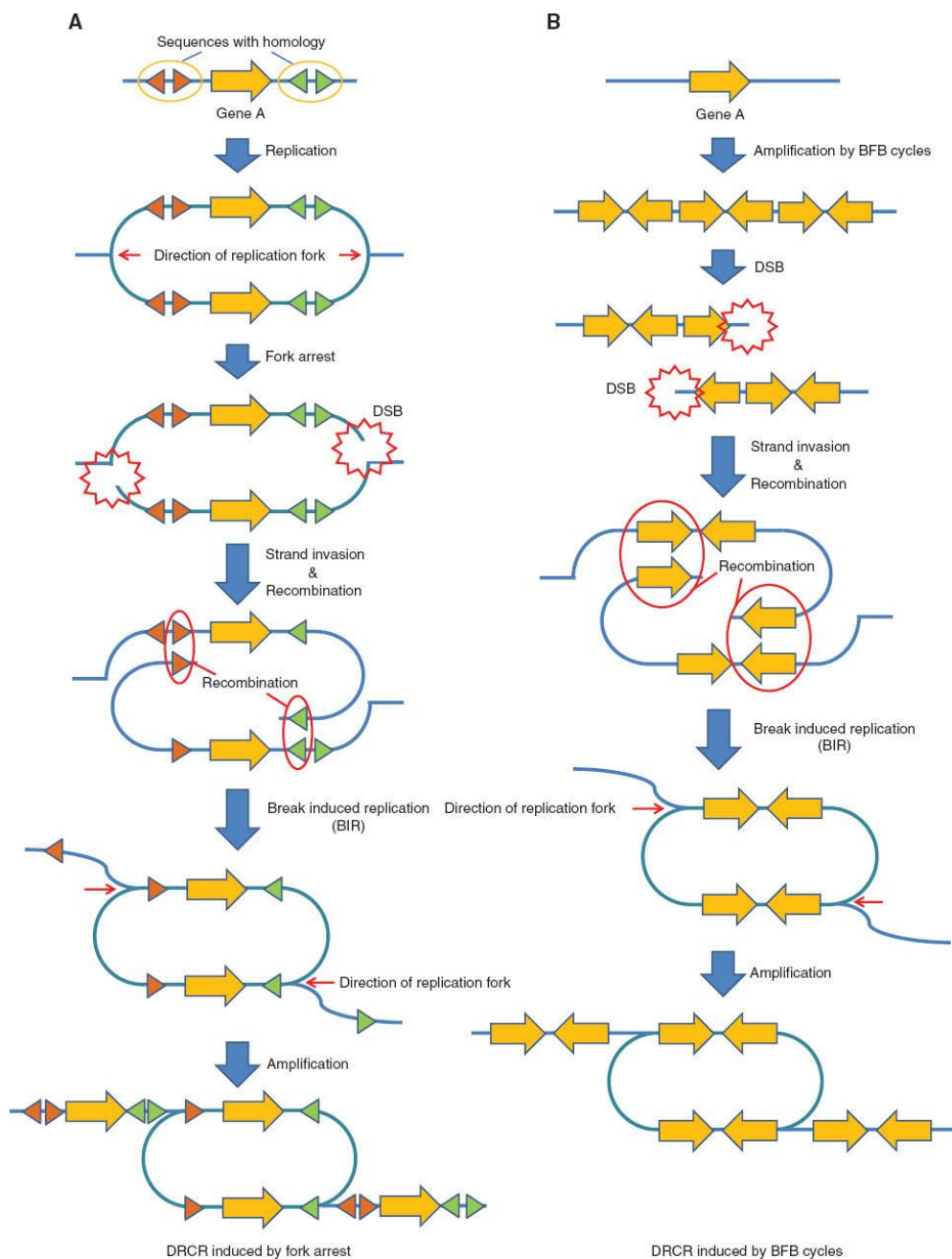


Рис. 4. Модель формирования ампликонов. Система генной амплификации, основанная на двойном цикле репликации и представленная в качестве модели амплификации онкогенного типа. А – репликативная вилка приостановлена, В - Breakage-fusion-bridge [Matsui A., 2013].

Существует 4 модели становления амплификации:

1. Экстрарепликация и рекомбинация
2. Повреждение на уровне клеточного цикла
3. Удвоенная репликация по кругу
4. Репликация определенных областей

Таким образом, генная амплификация – это и типичный генетический процесс при ракообразовании, и многие онкогены находятся при этом в амплифицированных областях.

1.2.2. Влияние Митомицина -С (Mitomycin –C) на жизнеспособность *Drosophila melanogaster*

Митомицин – С - является антибиотиком, который был выделен из культуры *Streptomyces caespitosus* и обладает противоопухолевым действием (структурная формула приведена на рисунке 5). Термостабильное вещество легко растворимое в органических растворителях, с высокой точкой плавления. Селективно может ингибировать синтез ДНК. Содержание гуанина и цитозина в ДНК коррелирует с частотой формирования поперечных мостиков под действием препарата. В высоких концентрациях приводит к ингибированию белка, а также снижает в клетке количество РНК.

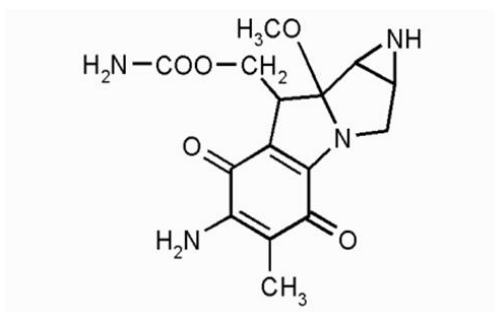


Рис. 5. Структурная формула митомицина – С.

Исследования молекулярно-генетических механизмов индицирования мутации *white* митомицином – С могут основываться на характерном рисунке МГЭ [Щербата Г.Р., Максимив Д.В., 2004]. ДНК возникших мутантов выделяли и сравнивали, используя Саузерн блот гибридизацию, с лабораторной линией. В возникшей линии *white* наблюдался характерный паттерн мобильных генетических элементов характерных для лабораторной линии *white*. Таким образом, мутация *white*, наблюдаемая в данном исследовании оказалась не что иное, как результат эксцизии (вырезания) последовательности ДНК, включающей МГЭ, а также инсерции 5-6 kb ДНК фрагментов [Maksymiv D.V. et al., 1995].

Генотоксический эффект на уровне генеративных клеток может определяться по количеству хромосомных aberrаций [De Andrade U.U. et al., 1992]. Воздействие митомицина – С подробно описывается в трудах Георгиева Р.Г., воздействие митомицином –С производилось не трофическим путем, а препарат вводился инъекционно в брюшко самцов линии *y2sc1waG* [Georgiev P.G. et al., 1990]. После чего особи из указанной линии спаривались с самками, содержащими сцепленные XX, и потомство от таких скрещиваний анализировалось на наличие мутаций в X-хромосоме. Выявлялись реверсии к дикому типу y^+ или sc^+ , возникшие благодаря эксцизии *mdg4* (gypsy) или инсерции некоторой последовательности в *mdg4*, а также реверсии *waG* мутантов и нестабильные f-мутации. В линии *y2sc1waG* частота подобного рода мутаций была значительно выше у контрольной выборки. Георгиев с соавторами предположили, что механизм кроется в гомологической рекомбинации. Установлено, что разные факторы стресса могут вызывать сходные генетические нарушения, а именно воздействуя митомицином – С получали ряд aberrаций: фрагментация Y - хромосомы, потеря X, мозаицизм и т.д. И весь этот спектр перестроек был очень схож с теми, что наблюдались при воздействии рентген – излучения на незрелые ооциты [Walker V.K., Williamson S.H., 1975]. Авторами предложено 2 модели действия митомицина – С:

1. Радиомиметический препарат (вещества, которые имитируют действие ионизирующего излучения на генетический аппарат (например, азотистый иприт);

2. Препарат с отсроченным эффектом;

Ещё в 1984 году показано, что митомицин – С уже сам по себе является мутагенным на всех стадиях развития *Drosophila melanogaster* [Graf U. et al., 1984]. А также в ряде работ обсуждается его кумулятивный эффект совместно с γ – лучами, с аспирином, с кофеином [Mukherjee R., 1965; Niikawa M. et al., 2007; Graf U., Würgler F.E., 1975]. В работе Graf U., Würgler F.E., (1975) приводятся данные, которые по его утверждению описывают

взаимодействие генотоксинов, ингибиторов генотоксинов и возможности биоактивации. В качестве протектора от соматических мутаций в работе фигурируют натуральный кофе, а в качестве генотоксинов выступают митомицин – С (ММС) и циклофосфамид (СРН). Генотоксины и протектор в различных концентрациях добавлялись в питательную среду, где личинки 3-го возраста питались до стадии куколки. Наиболее значимый дозо-зависимый эффект генотоксичности был установлен при использовании митомицина – С [Abraham S.K., Graf U., 1996]. Nikawa M., Nagase H., (2007) обнаружили протекторные свойства аспирина относительно генотоксического влияния митомицина – С [Nikawa M., Nagase H., 2007]. Из трех поставленных экспериментов, эффект наблюдался лишь в том случае, когда генотоксин и протектор действовали одновременно. В случаях воздействия аспирином до и после митомицина – С протекторного эффекта не наблюдалось.

Было показано также, что не только сам аспирин, но и его метаболиты оказывают протекторное воздействие при действии митомицина – С. Выдвинуто предположение, что эти метаболиты являются главным субстратом при становлении антигенотоксичности в метаболическом пути аспирина [Niikawa M. et al., 2006].

Антигенотоксическим эффектом может обладать также высушенный мицелий *Trametes versicolor* и *Pleurotus ostreatus* как показано в работах Kylyc A., Yesilada E. (2013). При совместном воздействии эти 2 гриба способны супрессировать возникновение соматических мутаций, вызываемых митомицином – С. Сами по себе данные грибы генотоксическим эффектом не обладают [Kylyc A., Yesilada E., 2013].

1.2.3. Влияние Циклофосфана (Cyclophosphamide) на жизнеспособность *Drosophila melanogaster*

Циклофосфан – лекарственный препарат, который относится к азотистым аналогам иприта (структурная формула приведена на рисунке 6). Механизм его действия: алкилирует нуклеофильные центры биологически

важных компонентов клетки, а именно белки и нуклеиновые кислоты, также нарушая структуру митохондрий. Применяют его обычно при различных опухолевых заболеваниях [Проценко Л.Д., Булкина З.П., 1985].

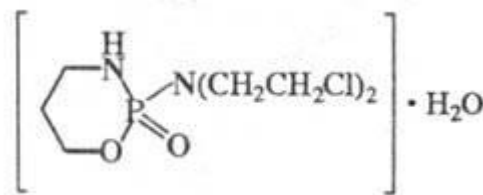


Рис. 6. Структурная формула циклофосфамида.

В ряде работ показан токсический эффект данного препарата. Например, воздействуя циклофосфаном на самцов, определено его токсическое воздействие на всех стадиях сперматогенеза, а также установлено повышение частоты связанных с полом (5%) рецессивных мутаций (с использованием линии Muller-5) [Sadiq M.F., al-Quraishie F.A., 2004]. Известно, что данный препарат используется широко в медицинской практике для лечения ревматоидного артрита, и как иммуносупрессор при трансплантации органов, и как карциноген при возникновении вторичных опухолевых образований. При лечении циклофосфаном у пациентов возникают хромосомные aberrации, изменение хроматид, генные мутации в соматических клетках. В генеративных же клетках также происходят генетические повреждения – установлено у мышей, крыс и хомячков [Anderson D. et al., 1995].

Показан генотоксический эффект циклофосфамида, который заключается в хромосомных aberrациях в клетках млекопитающих, митотических рекомбинациях у дрозофилы и доминантных летальных мутациях у грызунов. В работе Schimenti K.S. et al., (1997) говорится о геномной нестабильности, вызываемой циклофосфаном в сперматогониях мышей (использовали дозы 10, 100, 200 мг/кг) [Schimenti K.S. et al., 1997].

В ряде случаев для установления генотоксического эффекта препарата применяется тест, определяющий соматические мутации и рекомбинации с

использованием мутантных особей по крылу у дрозофилы (например, *multiple wing hair* или *flare*). Так, например, в работе Batiste-Alentorn M. et al. (1995) использовали 10 различных канцерогенов, среди которых присутствовал и циклофосфан, для определения генотоксичности. Циклофосфан, как и ещё 5 препаратов вызывал повышение видимых мутантных волосков на крыле у дрозофилы в исследуемом поле. Для подобного эксперимента использовались личинки 72-часового возраста, именно тогда происходят ключевые процессы морфогенеза крыла [Batiste-Alentorn M. et al., 1995].

Ещё в 1989 году была продемонстрирована мутагенная активность циклофосфана на процесс сперматогенеза у *Drosophila melanogaster*. Воздействие циклофосфаном индуцирует повреждения хромосом (типа транслокаций) уже в сперматоцитах. Также авторами установлено, что эффект от циклофосфана можно увеличить либо уменьшить, исходя из его совместных инъекций с другими препаратами (повышение - например, триптофан, понижение – фенобарбитал) [Zijlstra J.A., Vogel E.W., 1989].

1.2.4. Влияние Этопозид (Etoposide) на жизнеспособность *Drosophila melanogaster*

Этопозид является полусинтетическим производным подофиллотоксина, это ингибитор топоизомеразы II (структурная формула приведена на рисунке 7). Блокирует G2 фазу, вызывая гибель клеток в G2 и в поздней S-фазе клеточного цикла. Является растительным алкалоидом.

Установлено, что внутриклеточный уровень топоизомеразы II ассоциирован с устойчивостью к таким препаратам, как этопозид. В присутствии глюкокортикоидов цитотоксичность этопозидов повышается практически в 20 раз. После воздействия этопозидов происходят одиночные разрывы ДНК [Eder J.P. et al., 1993].

Ещё в 1993 году Nahon E. et al., (1993) обнаружил, что ДНК-топоизомеразы II может взаимодействовать с длинными концевыми повторами (LTR) – ретротранспозоном 173. Топоизомераза может расщеплять такие повторы на границе пурин-пиримидин. Без ингибитора топоизомеразы II расщепление преимущественно происходит в одном и том же месте, а именно U3LTR, но если действовать ингибиторами топоизомеразы II, то специфика мест расщепления меняется. Таким образом, ДНК топоизомеразы II изменяет степень суперскрученности ДНК, и соответственно участвует в контроле различных функций LTR [Nahon E. et al., 1993].

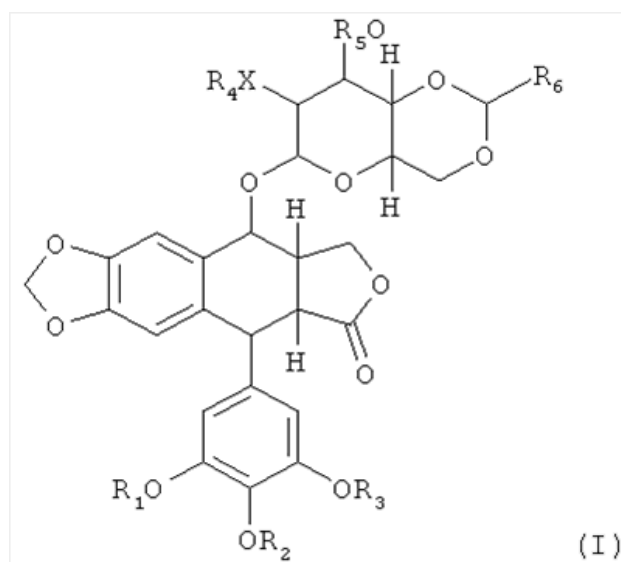


Рис. 7. Структурная формула этопозид.

Также существует ряд работ, посвященных определению генотоксического эффекта с использованием теста на соматические мутации и рекомбинации (SMART). Установлено, что этопозид обладает меньшей токсичностью, чем тенопозид или камптотецин [Frei H., Würigler F.E., 1996].

При совместном воздействии этопозид с алкилирующими агентами, например, этил метансульфонатом (EMS) эффект, производимый этопозидом, может становиться менее выраженным [Torres C. et al., 1998]. Совместный эффект двух факторов стресса различной природы показан также в работах Зайнуллина В.Г., Москалева А.А. (2000), посвященных воздействию малых радиационных доз и этопозид. В работах описана ключевая роль апоптоза в процессе продолжительности жизни у мутантов линии mei-41D5, подвергнутых воздействию обоих факторов стресса. Высказано предположение об активизации МГЭ посредством действия радиацией [Зайнуллин В.Г., Москалев А.А., 2000].

При воздействии этопозидом *in vitro* на фолликулы *D. melanogaster* происходит индукция апоптоза и наблюдаются аномалии в развитии фолликул (повреждения и мутации до стадии зрелости) [Nezis I.P. et al., 2000; Nezis et al., 2002].

1.2.5. Влияние Гельданамицина (Geldanamycin) на жизнеспособность *Drosophila melanogaster*

Гельданамицин (Geldanamycin) – ингибитор функциональной активности белков теплового шока группы Hsp (структурная формула приведена на рисунке 8).

Мутации белка Hsp90 могут дестабилизировать развитие, как у животных, так и у растений. Данный белок влияет на другие белки таким образом, что у них меняется пространственная структура. Установлено, что после нарушения работы Hsp90 уродства возникают также, по причине повышения активности МГЭ (транспозонов), что приводит к увеличению мутагенеза [Specchia V. et al., 2010]. Подавление активности белка Hsp90 при помощи химического ингибитора – гельданамицина ведет к повышению активности транспозонов и ретротранспозонов (использовалась особи scutoid: в ген *nos* встроился транспозон и ген перестал функционировать правильно).

Hsp90 – один из главных молекулярных шаперонов, его уровень экспрессии повышается при воздействии стрессовых факторов. Гельданамицин ингибирует АТФ-азную активность Hsp90. Результатом его воздействия является инактивация, дестабилизация и деградация белков, на пространственную структуру которых оказывает влияние Hsp90. Эти белки играют важную роль в процессах регуляции клеточного цикла, клеточного роста, апоптоза, онкогенеза, и поэтому гельданамицин используют также в экспериментах с культурами раковых клеток как противораковый препарат. Существует модифицированный гельданамицин с меньшей токсичностью, а именно – 17-аллиламиногельданамицин (17-AAG), структурная формула приводится на рисунке 8 [Miyata Y., 2003].

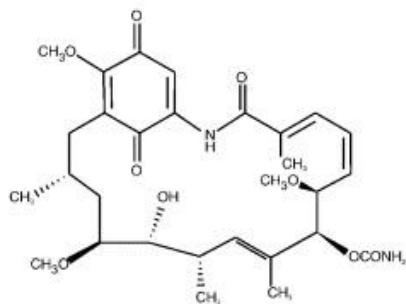
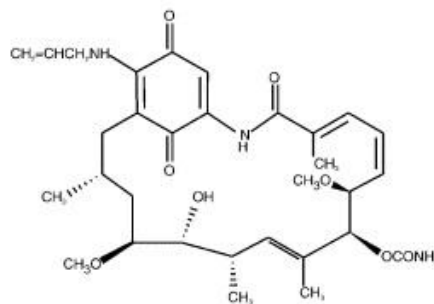
Geldanamycin**17-AAG**

Рис. 8. Структурные формулы гелданамицина и 17-AAG.

Также определены молекулярные механизмы, посредством которых гелданамицин уменьшает нейротоксичную активность. Гелданамицин делает более чувствительным ответ на стресс, увеличивая активность шаперона Hsp70, что защищает нейроны от нейротоксичности. Таким образом, в некоторых исследованиях гелданамицин выступает также в качестве соединения, которое может моделировать ответ на стресс и помочь в исследованиях заболеваний, таких как болезнь Паркинсона или болезнь Гентингтона (нейродегенеративное заболевание) [Auluck P.K. et al., 2005; Agrawal N. et al., 2005]. На дрозофиле как модельной системе можно подобрать оптимальные сочетания препаратов для комплексного воздействия при лечении ряда заболеваний. Например, для более эффективного действия препарата использовалось его совместное использование с ДМСО. Если подействовать гелданамицином до непосредственно теплового шока, то время на восстановление нормального синтеза белка после кратковременного теплового шока увеличивается. Комплекс шаперонов Hsp90 и Hsp70 способен обеспечивать термотолерантность [Duncan R.F., 2005]. Debat V. et al., (2006) использовали метод геометрической морфометрии для установления эффекта флюктуирующей асимметрии крыла у дрозофилы [Debat V. et al., 2006]. Уменьшая активность Hsp90 гелданамицином,

авторами не обнаружены различия в структуре крыла и выдвинуто предположение, что активность Hsp90 не влияет на фенотипическую вариацию формы крыла.

Тогда как в ряде других работ показано, что, используя ингибиторы активности Hsp90 можно спровоцировать аномалии в развитии у *Zebra-Fish* и у *Drosophila melanogaster*, которые очень часто связаны именно с асимметричным фенотипическим проявлением билатерально симметричных структур [Yeyati P.L. et al., 2007].

1.3. Мобильные генетические элементы *Drosophila melanogaster*

С тех пор как Барбарой МакКлинток в 1940-х годах были открыты мобильные генетические элементы и в последствие обобщена информация о них в концепцию о нестабильности генома, согласно которой МГЭ способны регулировать состояние генов и вызывать хромосомные мутации исследования МГЭ пополнились и пополняются всё новыми интересными открытиями [McClintock B., 1956; McClintock B., 1961]. Открытие инсерционного мутагенеза в природных популяциях дрозофилы, выделение и цитогенетический анализ мобильных диспергированных фракций ДНК хромосом дрозофилы и т.д.

Одними из первых работ по нестабильности генома *D. melanogaster* стали работы Demerec M. (1941), начавшиеся в 1919 году. Посвященные нестабильным мутациям yellow у *Drosophila virilis* (частота реверсий к норме 25%), а также исследования Green M.M. (1967) в которых он обнаружил высокомутабельный аллель гена *white* (реверсии к норме $1 \cdot 10^{-3}$ и дополнительно мутировал к другим аллелям) [Demerec M., 1941; Green m.M., 1967]. Данная аллель обладал также способностью к транспозициям в другие хромосомы. Автору удалось установить локализацию мест транспозиций.

Затем популяционная генетика пополнилась открытиями по гибридному дисгенезу у дрозофилы (дестабилизация потомства от

скрещиваний самок лабораторных линий с самцами дикого типа из природных популяций). Цитоплазма лабораторных линий оказалась несовместимой с хромосомами самцов из природных популяций.

Исследования, посвященные спонтанному мутагенезу у дрозофилы, проводились Берг Р.Л., ей были зафиксированы вспышки мутаций типа *yellow*, *abnormal abdomen* и другие [Berg R.L., 1974]. Голубовским М.Д. уже в 1980-х годах обнаружены ревертанты *singed*, где в первый интрон гена *singed* (*sn*) внедрился транспозон *hobo* и что за пределами локуса расположены другие *hobo* копии с большой частотой рекомбинаций между собой. Также же Голубовским была исследована вспышка мутации *yellow*, которая была обнаружена в природной популяции Украины в 1981 году. В регуляторный район внедрился *hobo*, и эта вставка привела к мутантному состоянию гена [Голубовский М.Д., Захаров И.К., 1979; Грачева Е.М. и др., 1998].

МГЭ эукариот делятся на 2 класса:

1. Ретротранспозоны
2. Транспозоны (имеют на концах короткие обогащенные повторы и в середине ген, кодирующий транспозазу)

Впервые предположение о том, что увеличение скоростей перемещения МГЭ в геномах в результате воздействия неблагоприятных факторов высказано Барбарой МакКлинток. Также этот вопрос изучался рядом зарубежных и отечественных исследователей, таких как: Strand D., Кайданов Л.З., Васильевой Л.А., Захаровым И.К., Козерецкой И.А. [Strand D., McDonald J.F., 1989; Pasyukova E.G. et al., 1986; Кайданов Л.З. и др., 1996; Васильева Л.А., 2004; Васильева Л.А. и др., 1987; Захаров И.К., 1995; Козерецкая И.А., 2010]

Известно, что около 22% генома дрозофилы представлено МГЭ. Но не все они способны к перемещению: перемещаться могут только полноразмерные копии, способные кодировать транспозазу и составляющие 1/3 всех МГЭ из генома дрозофилы [Захаров И.К., 1995]. Встраивание МГЭ

происходит в некоторые участки хромосом чаще, чем в другие: в прицентромерные, межгенные пространства и в пределы других МГЭ и т.д.

Наиболее изученными представителями МГЭ являются Р и *hobo*. Так как мобильные генетические элементы способны в значительной степени влиять на структуру геномов эукариот, то изучение их поведения, как в норме, так и при воздействии факторов стресса является особенно важным [Козерецкая И.А., 2010].

Структура Р-элемента

Данный мобильный генетический элемент вариабелен в своих размерах, достигает от 0,5 до 3 т.п.н (схема строения приводится на рисунке 9). В линиях дикого типа около 20 полноразмерных копий. При встраивании Р-элемента происходят дупликации в месте встраивания. У полноразмерного Р-элемента 4 открытых рамки считывания и 4 экзона. Известно, что до 1960 года в линиях из природных популяций не обнаруживался Р-элемент, но на данный момент во всех природных популяциях дрозофилы он присутствует [Козерецкая И.А., 2010].

Структура *hobo*-элемента

Hobo-элемент относится к суперсемейству hAT. Его полноразмерная копия также достигает в размере около 3 т.п.н. и содержит инвертированные терминальные повторы в 12 п.н (строение схематично представлено на рисунке 10). Встраивание *hobo*, как и Р-элемента, приводит к возникновению дупликаций. Имеет 2 рамки считывания, 1 из которых кодирует транспозазу. *Hobo* –транспозаза может вызывать перемещение других МГЭ. Классический *hobo* содержит 3 повтора ТРЕ (треонин-пролин-глутаминовая кислота) наблюдаемые у большинства природных популяций дрозофилы [Козерецкая И.А., 2010].

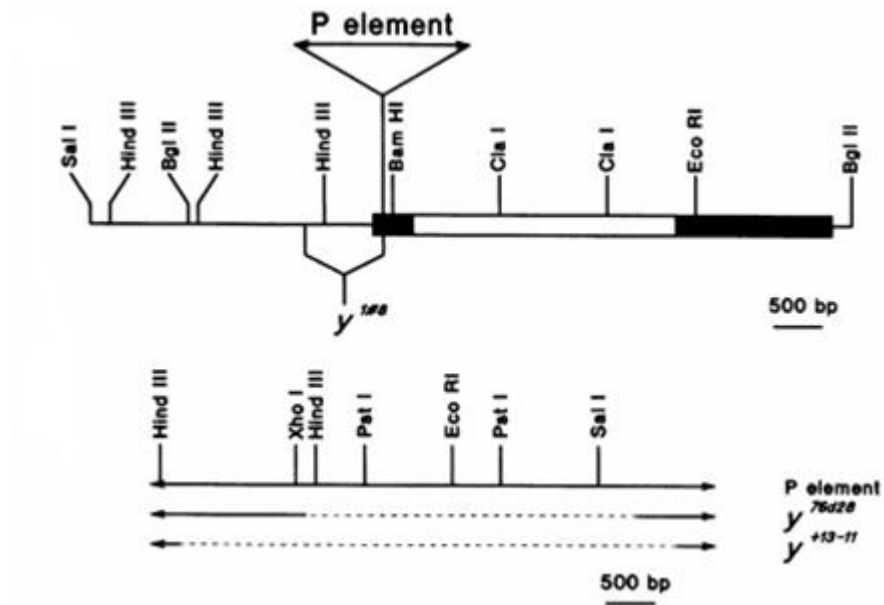


Рис. 9. Карта рестрикции гена *yellow* и ассоциированного с ним Р – элемента (Geyer P. et al., 1988).

В геномах дрозофилид встречается 3 вида *hobo*:

1. Полноразмерный или не полноразмерный
2. Элемент с внутренними делециями
3. Остатки от *hobo*: hRS (*hobo*-подобные частицы)

В отношении линий дикого типа *hobo*-элемент представлен в 2-х вариациях:

1. Н-линии дикого типа (содержат полноразмерные *hobo* (в среднем 10) и их производные(в среднем 30))
2. Е-линии дикого типа (не содержат полноразмерных *hobo*, но содержат фрагменты)

Со времен открытия мобильных генетических элементов изучается их способность к перемещению под воздействием факторов стресса и их роль в эволюции. Установлено, что активация может происходить при воздействии тепловым шоком, парами этанола, воздействии различными видами ионизирующих излучений, митомицина – С и многими другими факторами химической, физической и физиологической природы [Ратнер В.А., Васильева Л.А., 1993; Васильева Л.А. и др., 2003; Забанов С.А. и др., 1995; Георгиев Г.П. и др., 1988].

Также Герасимовой описано явление так называемого «транспозиционного взрыва», заключающееся в невероятно возрастающей активности перемещений МГЭ, которая в большинстве случаев не связана с адаптивным действием факторов стресса как таковых [Герасимова Т.И. и др., 1984]. Т.е. при отборе по количественному признаку происходило значительное количество транспозиций Р-элемента не несущих адаптивного значения. Установлено также, что дисгенные скрещивания также индуцируют перемещение МГЭ в Р-М и I-R системах дисгенных скрещиваний [Engels W.R., 1989; Ратнер В.А., Васильева Л.А., 1987].

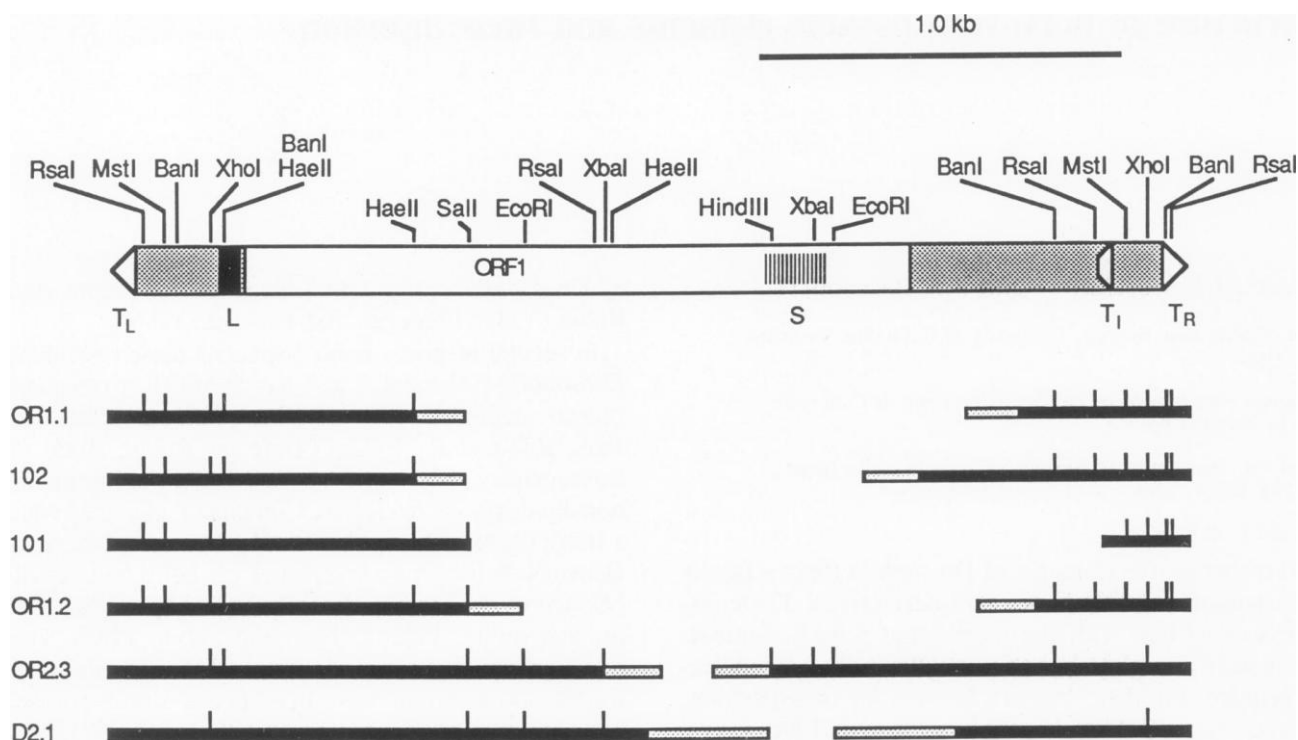


Рис. 10. Структура *hobo*-элемента и его производных [Streck R.D. et al., 1986].

При воздействии факторов физической природы происходили незначительные перемещения МГЭ, но последующая селекция после единичного воздействия приводит к тому, что активность перемещений МГЭ возрастает с каждым последующим поколением, т.е. пролонгирующий эффект наблюдается [Васильева Л.А. и др., 2011]. После воздействия факторами стресса химической природы активность перемещения МГЭ

возрастает значительно, сразу после первичного единичного воздействия, и таким образом, пролонгирующий эффект боле выражен. Можно сделать предположение, что факторы стресса различной природы вызывают различный биологический эффект, а также различный пролонгирующий эффект в ряду поколений [Васильева Л.А. и др., 2007].

В качестве физиологических факторов стресса используются, как правило, изогенизация, аутибридинг и инбридинг. Все три вида скрещиваний приводят к активизации МГЭ. Как показано Васильевой Л.А. и др., (2007) при воздействии факторами стресса как внешними, так и внутренними спонтанная скорость перемещения МГЭ 10^{-3} - 10^{-4} изменяется до 10^{-1} – 10^{-2} .

Встраивание МГЭ может происходить в определенные участки генома с более высокой частотой в так называемые «горячие сайты», а также могут наблюдаться вспышки инсерционного мутагенеза, что приводит к усилению синтеза ферментов транспозиции (транспозаза, ревертаза). Усиление синтеза ферментов усиливает процесс амплификации различных генов. Как предполагают Васильева Л.А. и др., (1987), поведение МГЭ отображает воздействие стрессовых факторов, которые провоцируют наследственную изменчивость в определенные критические периоды эволюции. Такого рода провокация изменчивости обуславливает изменение видовой нормы лимитирующих признаков, изменение мутаций, формирование нового гомеостаза и т.д.

Известно, что паттерн МГЭ в ответ на «+» или «-» селекцию по количественному признаку может изменяться [Васильева Л.А. и др., 2011]. Ненаправленная селекция (ведение контрольной выборки) характеризуется постоянством паттерна МГЭ [Biemont С., Vieira С., 2005]. Основным заключением авторов в данном исследовании является то, что фенотипическое проявление изучаемого признака коррелирует с транспозициями МГЭ.

В свою очередь Гвоздев В.А., Кайданов Л.З., (1986) предположили, что приспособленность популяций может определяться системой адаптивных

транспозиций по различным семействам МГЭ [Гвоздев В.А., Кайданов Л.З., 1986]. Но в связи с тем, что количественные признаки характеризуются тем, что вклад в их становление привносится множеством генов, выявить конкретный ген, благодаря которому формируется адаптация по тому или иному признаку не представляется возможным. Существует ещё дополнительная трудность, которая заключается в высокой фенотипической изменчивости анализируемых признаков, поэтому оценка и анализ таких признаков проводится с использованием биометрических и генетико-статистических методов [Васильева Л.А. и др., 2011]. Изучаются такие количественные признаки как половая активность самцов, неполная радиальная жилка крыла дрозофилы [Гвоздев В.А., Кайданов Л.З., 1986; Антоненко О.В., 2008]. В работе Васильевой Л.А. и др., (2007) резюмируется многолетнее исследование, посвященное нестабильности генома: «...усиление транспозиционной активности мобильных генетических элементов в геномах в ответ на стрессовые воздействия, носит, по-видимому, повсеместный характер. В таком случае паттерны различных семейств МГЭ можно рассматривать как универсальную геномную систему «мягкой» модификации полигенного контроля любых количественных признаков и в том числе признаков приспособленности...».

Таким образом, изучение явления нестабильности генома при действии химического или физического факторов стресса представляет особую важность на фоне возрастающего антропогенного влияния.

Сравнительный анализ биологического эффекта, возникающего после воздействия цитостатических препаратов с различным механизмом действия, показал, что различные препараты могут производить сходный биологический эффект.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе работы использовали следующие линии дрозофилы дикого типа, отловленные в природе в разное время и в разных местах, и впоследствии культивируемых в лабораторных условиях и мутантные линии:

1. Линия «Host» – отловлена на территории г. Екатеринбурге в 2005 году.
2. Линия «Белгород» – отловлена на территории г. Белгорода в 2006 году.
3. Линия «Биос-3» – отловлена на территории Биостанции УрФУ, в окрестностях г. Двуреченска в 2007 году.
4. Линия «Дегтярск» – отловлена на территории г. Дегтярска в 2011 году.
5. Лабораторная линия vestigial (редуцированные крылья) - (2R:12,884, 632...12,899,385).

2.1. Методы изучения жизнеспособности (генотоксического и тератогенного эффекта)

2.1.1. Метод исследования фертильности (плодовитости)

Данный метод заключается в том, что на протяжении 10-14 дней, учитывается индивидуальная плодовитость каждой пары особей в количестве 25 пар. На основании полученной плодовитости за весь период эксперимента высчитывается средняя индивидуальная плодовитость каждой пары (СИП).

Для проведения анализа скрещивали самку и самца. Каждую пару особей помещали в пластиковую пробирку с полой крышкой, заполненной агаровой средой, на поверхность которой наносился тонкий слой дрожжей. Ежедневно с крышки собирали яйца дрозофил, отложенные каждой парой за сутки, и помещали на агаровые пластинки на смоченной водой

фильтровальной бумаге в чашки Петри. Дополнительно определяли частоту гибели особей и их стерильность в течение всего периода эксперимента.

СИП высчитывали по следующей формуле:

$$\text{СИП} = \sum x_{yz} / N,$$

где x_{yz} - количество яиц, отложенных парой особей (y) за сутки (z); N – продолжительность эксперимента (дней).

2.1.2. Метод изучения частоты гибели потомства на эмбриональной стадии развития (учет эмбриональных доминантных леталей)

Доминантную эмбриональную летальность учитывали, как на ранней стадии развития (до 6 часа), так и на поздней (>6 часов) стадии эмбрионального этапа онтогенеза. Данный метод включает в себя определение неоплодотворенных яиц (патент RU 2487934; Заявитель: УрГУ, авторы: Марвин А.М., Давиденко К.А., Антосюк О.Н., Марвин Н.А.) и определение собственно ранних и поздних доминантных леталей. Ежедневно все яйца, отложенные 25 парами мух, переносились на агаровые пластинки в чашки Петри. Личинок, после вылупления, переносили на стандартную среду, а через 3-4 дня проводили подсчет неразвившихся яиц.

Ранние эмбриональные доминантные летали (РЭЛ) и поздние эмбриональные летали (ПЭЛ) вычисляются по формулам:

$$\text{РЭЛ}\% = \frac{\text{РЭЛ}}{\sum x_{yz}} \times 100\%$$

$$\text{ПЭЛ}\% = \frac{\text{ПЭЛ}}{\sum x_{yz}} \times 100\%,$$

где $\sum x_{yz}$ – сумма яиц, отложенных за день каждой парой дрозофил.

2.1.3. Метод морфометрического анализа крыла

Для проведения морфометрического анализа крыла особей с учетом половых различий в количестве 25 фиксировали в спирте, после чего крылья отпрепаровывали и с помощью камеры Nikon Coolpix E4500 фотографировали. Для измерения 18 линейных и 6 двумерных (площади ячеек крыла) параметров крыловой пластинки использовали программу Universal Desktop Ruler (AVPSoft) (схема представлена на рисунке 11). Полученные результаты обрабатывали в Statistica 10.0. Определяли параметры крыла, которые являются основными при разделении выборок при каноническом анализе. Дополнительно вели учет особей с повреждением крыла типа «вырезка». Имагинальные крыловые диски для подсчета коэффициента флуктуирующей асимметрии (КФА) отпрепаровывали, фотографировали камерой. Площадь правого и левого дисков от 25 особей измеряли при помощи программы, указанной выше. Полученные результаты обрабатывали в Statistica 10.0.

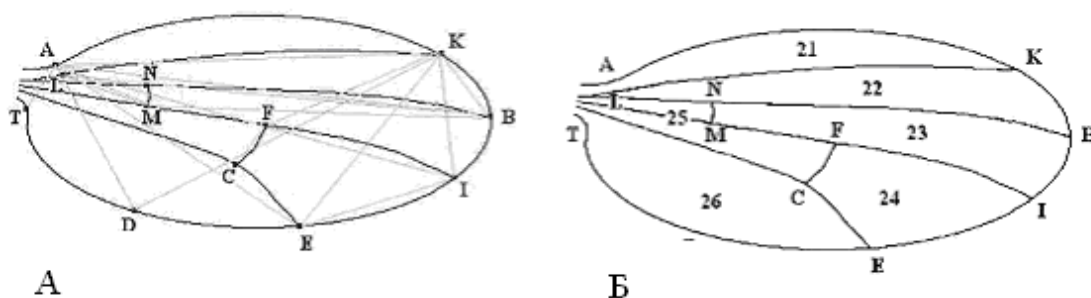


Рис. 11. Схема линейных (А) и двумерных (Б) параметров морфометрического анализа крыла *Drosophila melanogaster*.

2.1.4. ПЦР-анализ *hobo* и *hobo*-подобных элементов

Данный анализ проводили для определения количества *hobo* и *hobo*-подобных элементов после воздействия метотрексатом и после длительного направленного отбора на повреждение крыла типа «вырезка» в присутствии метотрексата. Анализ проводился на базе Санкт-Петербургского университета, г. Санкт-Петербург (праймеры подготовлены д.б.н. Т.В. Матвеевой, СПбГУ).

Копийность *hobo* элементов в 9 группах дрозофилы («Биос-3», «Белгород» и «Host» контрольные группы, группы после первичного воздействия метотрексатом и группы, подвергшиеся направленной селекции в присутствии метотрексата) оценивали методом ПЦР в реальном времени с праймерами к последовательности *hobo* элемента и гена *scalloped*:

hoboPr	6'FAM 5'-CCAAGAACTCCAGAACTCCAGAACTCC- 3' ВНQ-1
hoboF	5'-ATTCAAGTCCCAATTTTCATACAC-3'
hoboR	5'-TCGTTCAATTTTCATCTAATGGAG-3'
sd1Pr	R6G 5'-CCATCCACATCCGCATCCACCATCCGC-3' ВНQ-1
sd1F	5'-CAGTTTCGAAAAATTTTTCGATGG-3'
sd1R	5'-CGGATGGTGGATGCGGATGT-3'

Объем реакционной смеси для ПЦР составлял 20μл. В ее состав входили матричная ДНК, 1.5 U «Taq» полимеразы («Бигль»), буфер, предложенный фирмой-производителем фермента (концентрация Mg^{++} в буфере составляет 2,5мМ) и 5мкМ каждого dNTP, 10пкМ праймеров, 5пкМ зонда.

ПЦР проводили по программе: 5 мин 93 °C, 50 циклов – 15 сек 93 °C, 60 сек 55 °C, 60 сек 72 °C, далее 15 сек 25 °C с использованием прибора CFX96 (Biorad). Значение $C_{(T)}$ вычисляли прямо пропорционально логарифму количества субстрата.

2.2. Флуоресцентная гибридизации *in situ* (FISH-анализ) линий дикого типа для установления присутствия полноразмерных копий *hobo* и *P* – элемента

Исследование проводили на базе Института цитологии и генетики, г. Новосибирск. Для проведения анализа использовали методику изготовления давленных препаратов слюнных желез дрозофилы.

2.2.1 Приготовление давленных препаратов политенных хромосом слюнных желез *Drosophila melanogaster*

Слюнные железы личинок третьего возраста, выращенных при 24 °С, извлекали в 55-65% уксусной кислоте, очищали от жировой ткани, раздавливали между предметным стеклом и покровным стеклом. Препарат замораживали, используя жидкий азот, вскрывали и обрабатывали последовательно по 5 мин в двух сменах этанола. Препарат высушивали и просматривали политенные хромосомы под фазово - контрастным микроскопом.

2.2.3. Гибридизация *in situ* с препаратами политенных хромосом личинок *Drosophila melanogaster*

Мечение зондов проводили методом ник - трансляции. ДНК *hobo* метили биотином, ДНК *P* – элемента метили дегюксигенином. Реакцию останавливали добавлением 1 мкл 0,5М ЭДТА. Гибридизационный раствор: 50% формамид, 4*SSC (0.6 М NaCl; 0,6 М цитрат натрия), 10% декстран-сульфат, 1* Денхардта (0,1 г фикола, 0,1 г поливинилпирролидона, 0,1 г BSA и 10 мл H₂O), 0,1 М фосфатного буфера и меченая ДНК зонда (20 нг на препарат). Для гибридизации препараты прогревали 30 минут при 70 °С в растворе 2xSSC (20xSSC: 3М NaCl, 0.3М цитрат Na, pH 7,0), затем обрабатывали последовательно в 70% и 96% этаноле, высушивали и

денатурировали 2 минуты в 0,07 М NaOH, затем вновь проводили по спиртам, высушивали. На участок стекла, содержащий хромосомы, наносили 1-2 μ л биотинилированной ДНК в гибридизационном буфере. Гибридизацию проводили во влажной атмосфере в термостате при 37 °С в течение 18 часов, потом промывали в 2хSSC при 37 °С 2 раза по 10 минут и при комнатной температуре 2 раза по 10 минут и 5 минут в 1хPBS (10хPBS: 1,3М NaCl, 0,07М Na₂HPO₄, 0,03М NaH₂PO₄). Окрашивание проводили с использованием Dapi с антифейдом (Vestashield). Определение цитологических сайтов проводили согласно фотографическим картам политенных хромосом *D. melanogaster*.

2.3. Метод воздействия физическими факторами стресса

В качестве факторов физического стресса использовали рентген-излучение, γ -излучение и β -излучение (лейцин ¹⁴C). Личинок облучали дозами 8,77, 17,54, 26,31 Гр, при мощности дозы 146,17 и 154,76 мГр/с, базируясь на литературных источниках. Проводили облучение особей конца второго личиночного возраста (ключевые процессы формирования крыла). Воздействие рентген и γ -излучением проводилось Асеевым Н. И. в Свердловском областном научно-практическом центре «Онкология». Рентгеновское облучение проводилось аппаратом «РЕНТГЕН-ТА» (Рисунок 12). Воздействие γ -излучением проводилось аппаратом «АГАТ-С» (Рисунок 13) (Таблица 1).

Таблица №1.

Параметры облучения мух рентгеновским и гамма-излучением.

Установка	Энергия излучения, кэВ	Мощность дозы, мГр/с	Экспозиция, с	Поглощённая доза, Гр
РЕНТГЕН-ТА	20-100 кэВ	146,17	60	8,77
		146,17	120	17,54
		154,76	170	26,31
АГАТ-С	97 кэВ (⁶⁰ Co)	19,49	450	8,77
		19,49	900	17,54
		19,49	1350	26,31



Рис. 12. Аппарат «РЕНТГЕН-ТА». Областной онкологический центр, г. Екатеринбург.

Радиоактивная метка лейцин ^{14}C вводилась трофическим путем. Выращивали личинок 1-го личиночного возраста (эксперимент 1) и со 2-го личиночного возраста (эксперимент 2). Личинки прибывали на радиоактивной среде вплоть до вылета имаго. Удельная активность инкорпорированной метки 3 МБк/мл среды Альдерстона. Радиоизотоп ^{14}C ($T_{1/2} = 5730$ лет) является β -излучателем с максимальной энергией β -частиц 156,47 кэВ (средняя энергия – 49,47 кэВ).

В ходе работы были поставлены следующие варианты эксперимента:

Эксперимент 1: В каждой линии скрещивались самцы и самки, которые содержались на радиоактивной среде с 1-го личиночного возраста.

Эксперимент 2: В каждой линии скрещивались самцы и самки, которые содержались на радиоактивной среде со 2-го личиночного возраста.

Эксперимент 3: В каждой линии скрещивались меченные по ^{14}C самки (содержались с 1-го личиночного возраста) с самцами из контрольной серии.

Эксперимент 4: В каждой линии скрещивались меченные по ^{14}C самцы (содержались с 1-го личиночного возраста) с самками из контрольной серии.



Рис. 13. Внешняя часть аппарата «Агат-С». Областной онкологический центр, г. Екатеринбург.

2.4. Метод воздействия химическими факторами стресса

В качестве факторов химического стресса в исследовании использовали цитостатические препараты, используемые в химиотерапии в настоящее время, а именно:

1. Метотрексат
2. Этопозид
3. Циклофосфан
4. Митомицин-С
5. Гельданамицин

Все вышеперечисленные препараты использовали в концентрации 2 мкг/кг питательной среды. Для проведения длительной направленной селекции особей, выращенные на среде с метотрексатом, просматривали на наличие повреждения типа «вырезка» на крыле. Особей, несущих двусторонние повреждения, использовали для дальнейшей селекции в присутствии метотрексата (воздействие метотрексатом проводилось через поколение).

Полученные результаты обрабатывали, используя программу Statistica 10 (критерий Манна-Уитни для оценки плодовитости и эмбриональной летальности), дискриминантный анализ, канонический анализ (для оценки линейных и двумерных параметров крыла), критерий Стьюдента для оценки КФА имагинальных дисков.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Динамика изменения параметров жизнеспособности при воздействии факторов стресса различной природы в линиях дикого типа, отловленных в природных популяциях

Влияние различных факторов стресса на геномную нестабильность ряда линий дикого типа *D. melanogaster* оценивали с помощью косвенных методов, отображающих динамику изменения жизнеспособности, а именно фертильности особей и эмбриональной доминантной летальности потомства.

Воздействие производилось факторами стресса физической и химической природы. В качестве факторов стресса физической природы использовали рентгеновское излучение, γ и β -излучение. В качестве факторов стресса химической природы использовали лекарственные препараты, применяемые в медицинской практике при химиотерапии (гельданамицин, метотрексат, циклофосфан, митомицин-С, этопозид).

Влияние излучения на показатели жизнеспособности исследовали на примере двух линий дикого типа «Биос-3» и «Белгород». Прослежен биологический эффект рентгеновского излучения в зависимости от дозы и гендерных различий. Наиболее значимые различия по отношению к контрольной группе по уровню плодовитости при дозе 8,77 Гр в линии «Биос-3» прослежен тогда, когда воздействию подвергались и самки, и самцы (в группах, где воздействию излучения подвергались только самцы или обе скрещиваемые особи различия значимы, $p \leq 0,05$). В линии «Белгород» при данной дозе и виде излучения обнаружены различия при облучении обеих родительских особей и только самки (рисунок 14-15, таблица 2, приложение 1).

Таблица 2.

Показатели жизнеспособности линий «Биос-3» и «Белгород» после
воздействия рентгеновским излучением разными дозами

Показатель Линия - воздействие	СИП (средняя индивидуаль ная плодовитость)	РЭЛ (частота встречаемости ранней эмбрионально й смертности F1)	ПЭЛ (частота встречаемост и поздней эмбриональн ой смертности F1)
Биос-3-Контроль	26,99±2,34	3,78±0,89	1,20±0,61
Биос-3-8,77 Гр-♀ и ♂	11,99±1,45*	6,64±1,12*	4,72±1,14*
Биос-3-8,77 Гр-♀	13,7±2,66	4,00±0,94*	2,28±0,66*
Биос-3-8,77 Гр-♂	13,14±1,68*	5,6±1,16*	3,22±1,01*
Биос-3-17,54 Гр-♀ и ♂	19,52±1,82	17,42±2,82*	12,59±2,19*
Биос-3-17,54 Гр-♀	16,16±1,83	5,25±0,80*	3,39±1,27*
Биос-3-17,54 Гр-♂	5,44±1,14*	8,21±3,75*	2,83±0,77*
Биос-3-26,31 Гр-♀ и ♂	13,70±2,44	12,81±2,38*	2,66±0,76*
Биос-3-26,31 Гр-♀	9,14±1,57*	5,75±2,31*	1,88±0,61*
Биос-3-26,31 Гр-♂	2,08±0,75*	4,27±2,33	2,60±1,46
Белгород-Контроль	34,49±2,77	1,11±0,46	0,73±0,23
Белгород-8,77 Гр-♀ и ♂	11,53±1,55*	7,58±1,28	4,82±1,11
Белгород-8,77 Гр-♀	9,75±2,09*	13,26±3,72	1,52±0,52*
Белгород-8,77 Гр-♂	16,78±2,37	5,57±1,48	0,32±0,17*
Белгород-17,54 Гр-♀ и ♂	13,89±2,56	13,86±4,94	1,89±0,65
Белгород-17,54 Гр-♀	15,84±1,23	6,01±1,36	2,59±0,81
Белгород-17,54 Гр-♂	14,60±1,75	9,53±2,14	1,25±0,37*
Белгород-26,31 Гр-♀ и ♂	16,99±1,86	4,77±1,65	3,94±0,30
Белгород-26,31 Гр-♀	12,90±2,65	5,79±1,06	1,82±0,39*
Белгород-26,31 Гр-♂	12,76±2,11*	9,21±2,22	1,03±0,27*

Примечание: в таблице достоверные отличия выделены звездочкой.

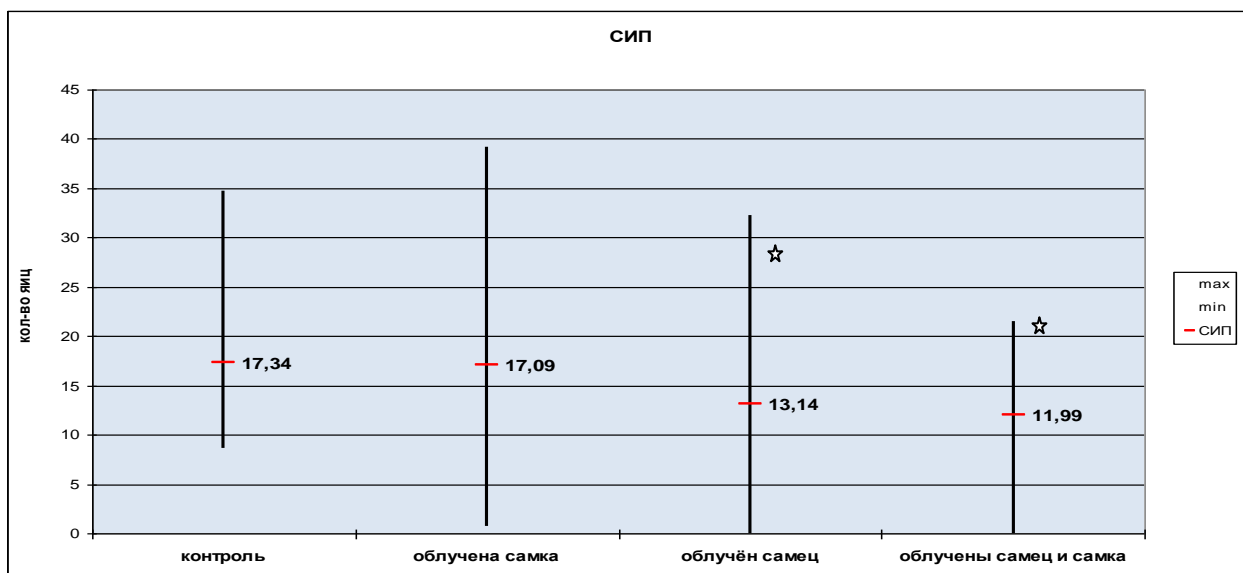


Рис. 14. Средняя индивидуальная плодовитость линии «Биос-3» при воздействии рентгеновским излучением дозой 8,77 Гр с учетом гендерных различий.

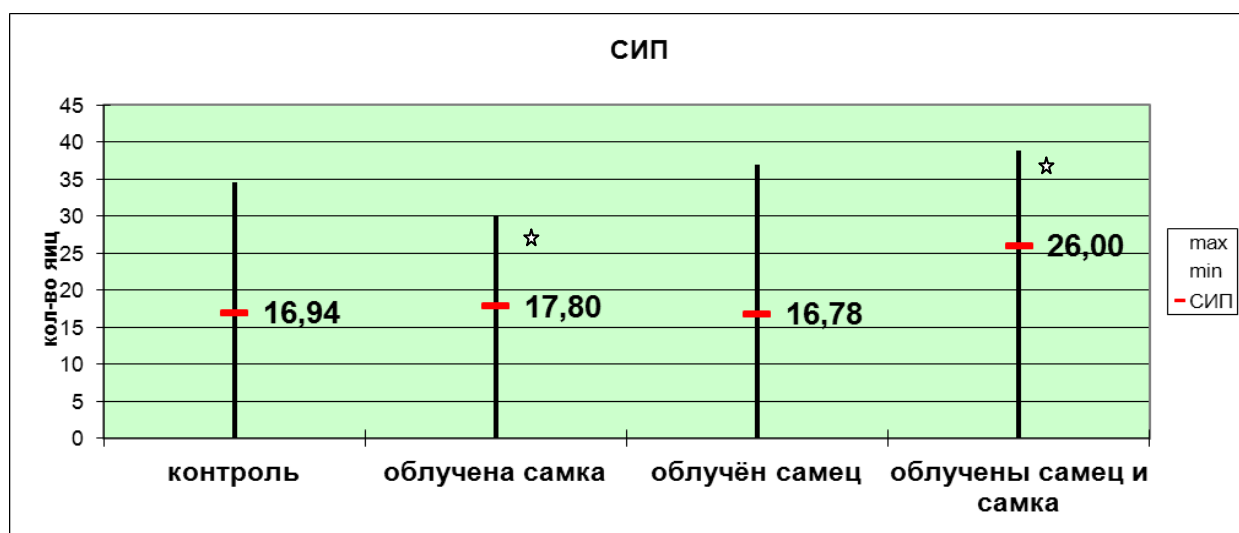


Рис. 15. Средняя индивидуальная плодовитость линии «Белгород» при воздействии рентгеновским излучения дозой 8,77 Гр с учетом гендерных различий.

При увеличении дозы до 17,54 Гр в линии «Биос-3» обнаружены некоторые отклонения результатов, относительно наблюдаемых в предыдущем эксперименте. Когда воздействию подвергались только самки, то уровень плодовитости повышался, когда только самцы - понижался, что

свидетельствовало о большей чувствительности самцов к действию радиации. При ещё большем увеличении дозы 26,31 Гр в линии «Биос-3» плодовитость понижалась в 2-х из трех видах скрещивания (рисунок 16).

Схема скрещиваний:

1. Облученная самка × облученный самец
2. Облученная самка × необлученный самец
3. Необлученная самка × облученный самец

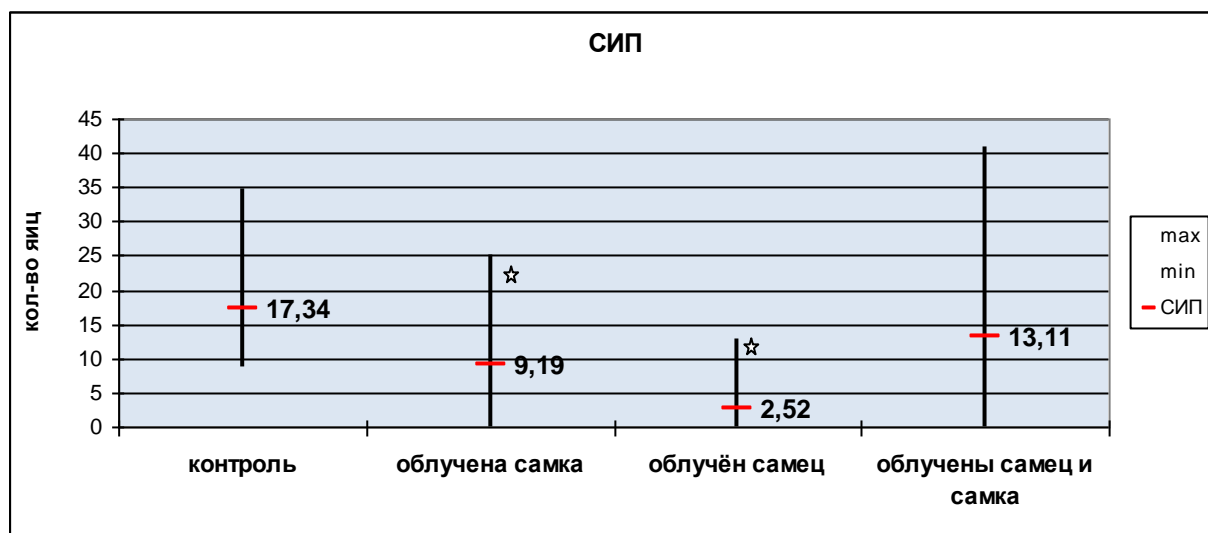


Рис. 16. Средняя индивидуальная плодовитость линии «Биос-3» при воздействии рентгеновским излучением дозой 26,31 Гр с учетом гендерных различий.

Похожие результаты можно пронаблюдать и в отношении линии «Белгород». При воздействии дозой 17,54 Гр в линии «Белгород» при скрещивании необлученная самка × облученный самец наблюдается наименьшая плодовитость из всех экспериментальных групп, но при этом остается в пределах нормы. При увеличении дозы до 26,31 Гр особи линии «Белгород» реагируют сходным образом, все флуктуации СИП в пределах нормы (кроме опыта с облученным самцом), лишь можно отметить

небольшие отклонения в ту или иную сторону, повторяющие значимые отклонения в линии «Биос-3» (рисунок 17, приложение 2).

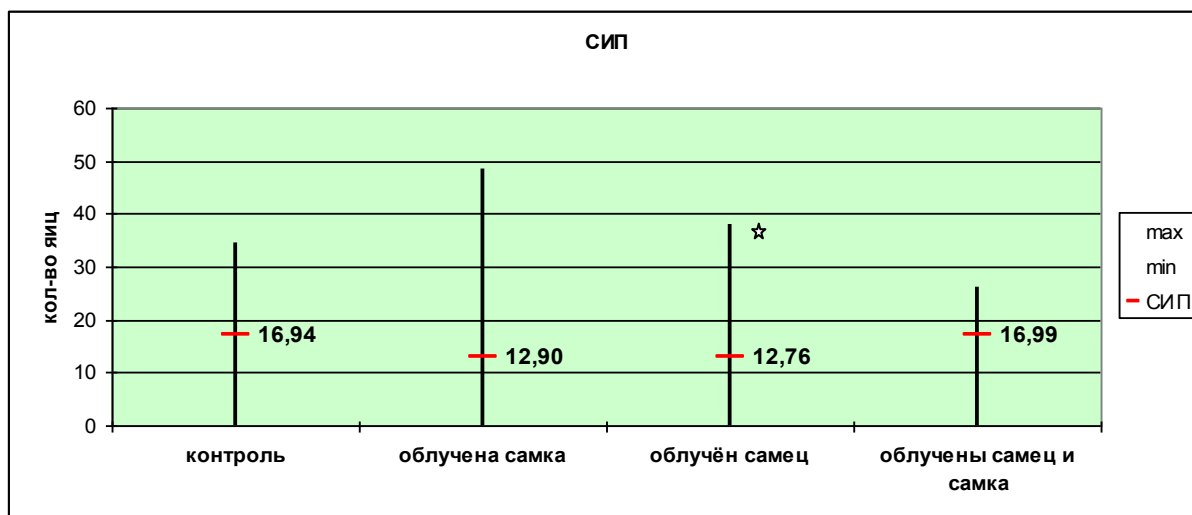


Рис. 17. Средняя индивидуальная плодовитость линии «Белгород» при воздействии рентгеновским излучением дозой 26,31 Гр с учетом гендерных различий.

Помимо фертильности, одним из параметров оценки воздействия рентгеновского излучения является частота гибели потомства на разных этапах эмбрионального развития. Если летальность наблюдается в первые 6 часов развития, то такого рода гибель относится к ранним эмбриональным леталям (РЭЛ), а если после 6 часа и далее, то к поздним эмбриональным леталям (ПЭЛ).

В линии «Биос-3» при воздействии рентгеновским излучением дозой 8,77 Гр во всех вариантах скрещиваний наблюдается значительное увеличение частоты гибели потомства на ранних и поздних эмбриональных стадиях развития (достоверное при всех вариантах скрещиваний). При дозе 17,54 Гр частота летальности также возрастает как на раннем, так и на позднем эмбриональном этапе развития. Группа самка × самец и группа с облученной самкой при дозе 26,31 Гр рентгеновским излучением

демонстрирует достоверные отличия как в отношении РЭЛ, так и в отношении ПЭЛ (рисунок 19-20, таблица 2, приложение 4).



Рис. 18. Ранние и поздние доминантные эмбриональные летали у дрозофилы.

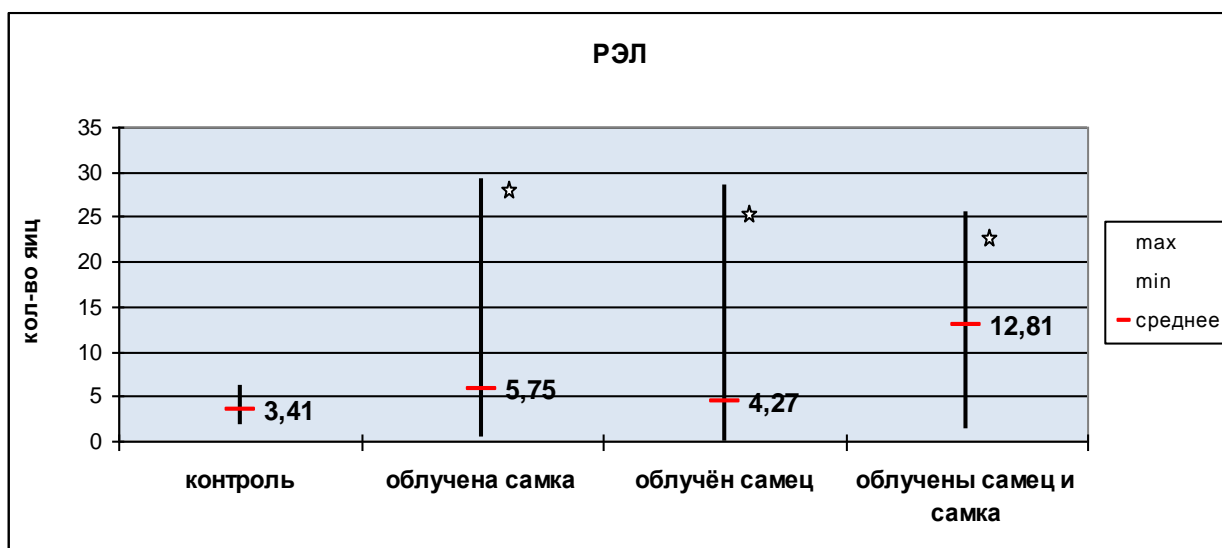


Рис. 19. Частота эмбриональных доминантных леталей на ранней стадии развития линии «Биос-3» при воздействии рентгеновским излучением дозой 26,31 Гр с учетом гендерных различий.

После воздействия рентгеновского излучения дозой 8,77 или 26,31 Гр на особой линии «Белгород» можно отметить снижение частоты гибели потомства на ранних стадиях развития и увеличение частоты гибели потомства в группах, где воздействию подвергались только самки или только самцы на поздних стадиях эмбрионального развития (таблица 2, приложение 5). Отметим отсутствие значимых флуктуаций в отношении гибели особей на ранних этапах эмбрионального развития при воздействии всеми тремя дозами рентгеновского излучения на особой линии «Белгород».



Рис. 20. Частота эмбриональных доминантных леталей на поздней стадии развития линии «Биос-3» при воздействии рентгеновским излучением дозой 26,31 Гр с учетом гендерных различий.

Вторая серия экспериментов была направлена на установление биологического эффекта γ -излучения на вышеуказанные линии (таблица 3).

Таблица 3.

Показатели жизнеспособности линий «Биос-3» и «Белгород» после
воздействия γ -излучением разными дозами ($M \pm m$)

Показатель Линия – воздействие	СИП (средняя индивидуальна я плодовитость)	РЭЛ (частота встречаемости ранней эмбриональной смертности F1)	ПЭЛ (частота встречаемости поздней эмбриональной смертности F1)
Биос-3-Контроль	26,99 \pm 2,34	3,78 \pm 0,89	1,20 \pm 0,61
Биос-3-8,77 Гр-♀ и ♂	5,18 \pm 0,64*	20,81 \pm 3,16*	3,20 \pm 1,15*
Биос-3-8,77 Гр-♀	17,72 \pm 1,11	4,24 \pm 0,80*	1,06 \pm 0,32*
Биос-3-8,77 Гр-♂	19,13 \pm 2,75	2,63 \pm 0,86	1,57 \pm 0,45*
Биос-3-17,54 Гр-♀ и ♂	15,59 \pm 1,37	18,87 \pm 3,30*	6,69 \pm 1,90*
Биос-3-17,54 Гр-♀	13,55 \pm 1,42*	3,73 \pm 0,79*	1,74 \pm 0,33*
Биос-3-17,54 Гр-♂	13,20 \pm 1,10*	3,89 \pm 1,55	2,84 \pm 1,25
Биос-3-26,31 Гр-♀ и ♂	3,49 \pm 0,99*	24,74 \pm 4,53*	2,46 \pm 0,66*
Биос-3-26,31 Гр-♀	7,83 \pm 1,71*	9,37 \pm 2,27*	1,05 \pm 0,30*
Биос-3-26,31 Гр-♂	14,12 \pm 1,17	7,15 \pm 1,80*	7,07 \pm 0,83*
Белгород-Контроль	34,49 \pm 2,77	1,11 \pm 0,46	0,73 \pm 0,23
Белгород-8,77 Гр-♀ и ♂	7,68 \pm 1,06*	21,65 \pm 5,64*	2,64 \pm 0,80
Белгород-8,77 Гр-♀	24,91 \pm 2,87*	12,95 \pm 4,03	1,70 \pm 0,47*
Белгород-8,77 Гр-♂	22,18 \pm 2,92*	3,30 \pm 0,84	1,86 \pm 0,56*
Белгород-17,54 Гр-♀ и ♂	14,80 \pm 1,56	5,49 \pm 1,83	3,38 \pm 1,14
Белгород-17,54 Гр-♀	14,12 \pm 3,37	1,16 \pm 0,30*	1,09 \pm 0,66*
Белгород-17,54 Гр-♂	30,19 \pm 3,01*	1,89 \pm 0,98*	0,96 \pm 0,36*
Белгород-26,31 Гр-♀ и ♂	17,58 \pm 1,77	11,31 \pm 1,24	1,70 \pm 0,53*
Белгород-26,31 Гр-♀	11,25 \pm 2,20	14,09 \pm 4,10	2,04 \pm 0,66*
Белгород-26,31 Гр-♂	10,23 \pm 1,63*	7,58 \pm 3,12	4,27 \pm 3,26*

Примечание: в таблице достоверные отличия выделены звездочкой.

В опытах с линией «Биос-3» при дозе 8,77 Гр СИП в случае облученная самка × облученный самец понижается, тогда как, в остальных группах данный показатель остается в пределах нормы. Но уже при увеличении дозы до 17,54 Гр СИП во всех группах становится ниже, чем в контрольной группе (достоверно в группах необлученная самка × облученный самец и облученная самка × необлученный самец). При воздействии γ -излучением дозой 26,31 Гр СИП достоверно снижается в двух из трех экспериментальных группах (рисунок 21, приложение 2).

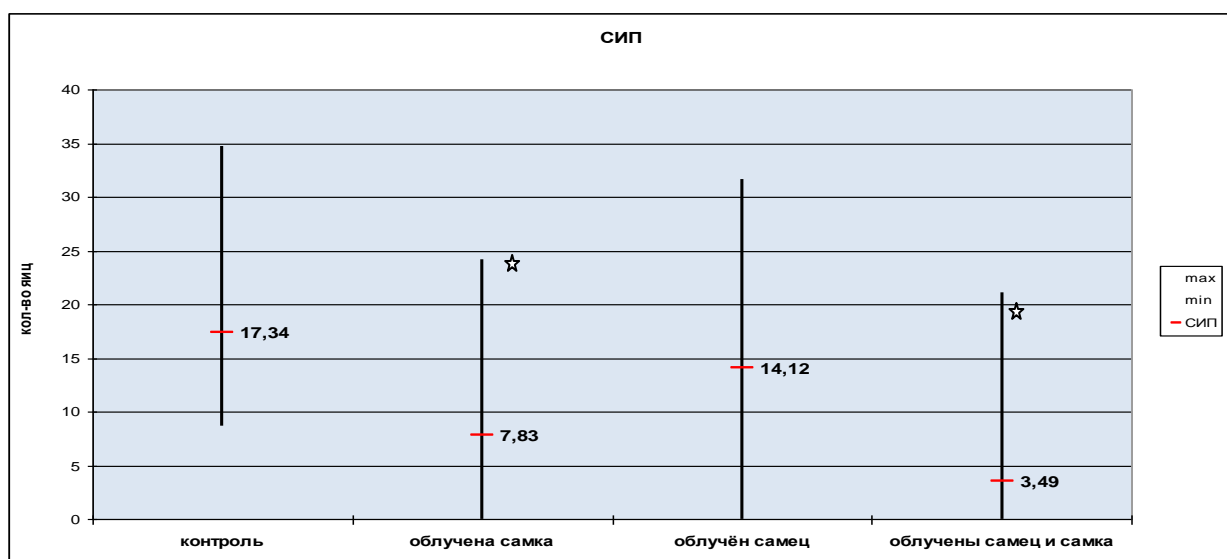


Рис. 21. Средняя индивидуальная плодовитость линии «Биос-3» при воздействии γ -излучения дозой 26,31 Гр с учетом гендерных различий

В линии «Белгород» при 8,77 Гр снижается во всех трех экспериментальных группах, тогда как при 17,54 и 26,31 Гр только в группе необлученная самка × облученный самец. Такая незначительная реакция позволяет сделать предположение о радиоустойчивости линии (рисунок 22, приложение 1).

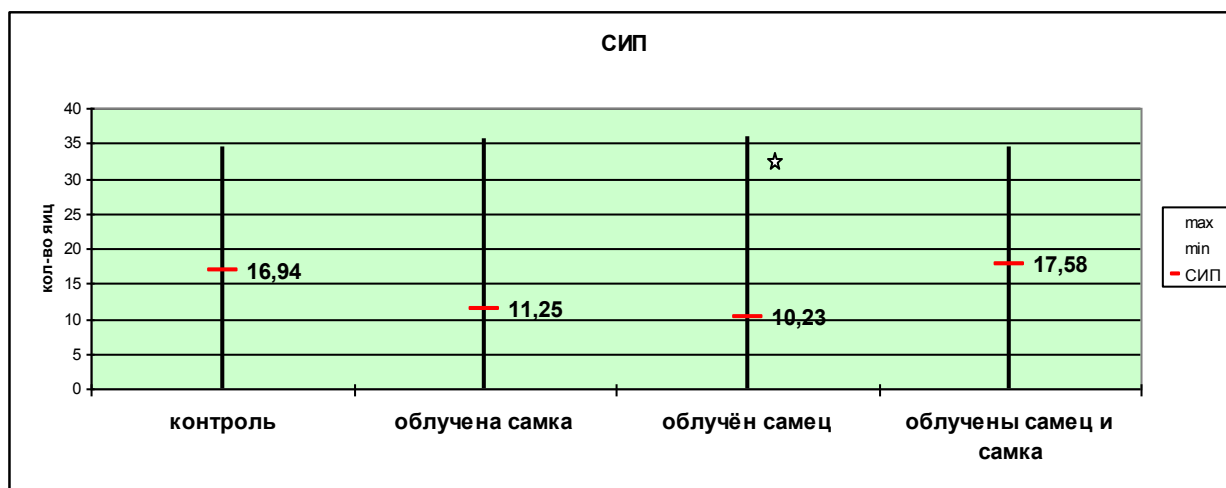


Рис. 22. Средняя индивидуальная плодовитость линии «Белгород» при воздействии γ -излучения дозой мощностью 26,31 Гр с учетом гендерных различий.

Анализ частоты гибели потомства в линии «Биос-3» на эмбриональной стадии развития выявил, что при воздействии γ -излучения дозами 8,77; 17,54; 26,31 Гр наблюдается более значимый эффект, чем при воздействии рентгеновского излучения. При дозах 8,77 и 17,54 Гр увеличивается частота гибели потомства на ранней стадии эмбрионального развития в группах, где воздействию подвергались обе родительские особи и только самка. При 17,54 Гр обнаружены различия в группах облученная самка \times облученный самец и облученная самка \times необлученный самец как в отношении РЭЛ, так и в отношении ПЭЛ. При дозе 26,31 Гр все три экспериментальные группы характеризуются увеличением РЭЛ и ПЭЛ потомства (рисунок 23-24, таблица 3, приложение 4).

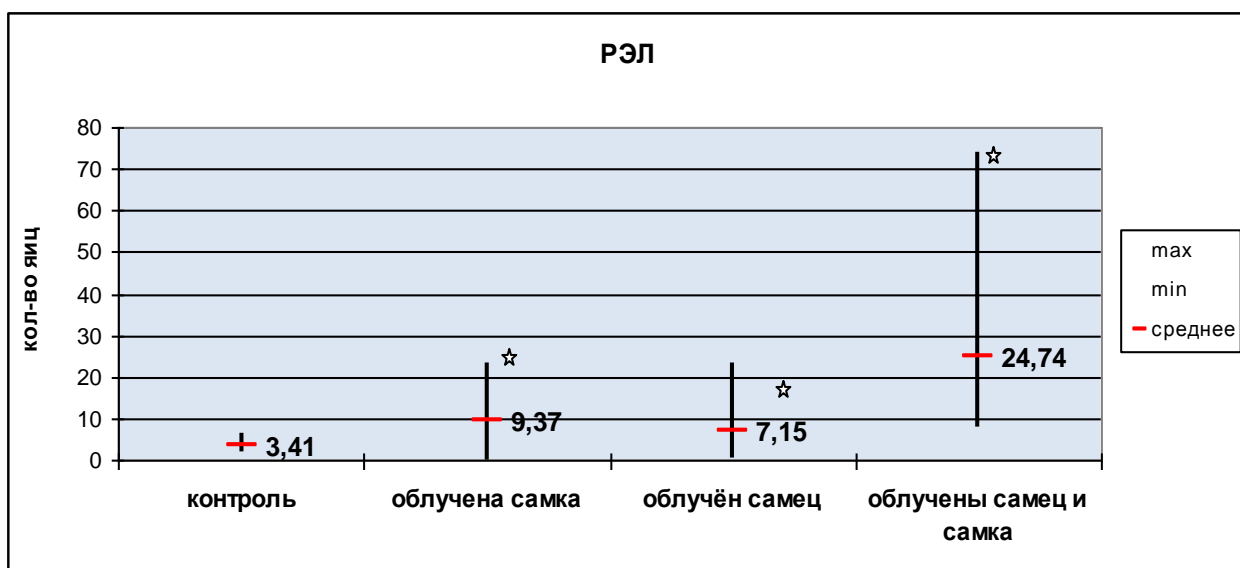


Рис. 23. Частота ранних доминантных леталей линии «Биос-3» при воздействии γ -излучения дозой 26,31 Гр с учетом гендерных различий.

В линии «Белгород» при дозе 8,77 Гр возрастает частота ранней эмбриональной летальности потомства. В группах с только облученной самкой или с только облученным самцом частота РЭЛ и ПЭЛ значительно увеличивается при 17,54 Гр. При увеличении дозы до 26,31 Гр частота РЭЛ не отличается достоверно от контрольной группы, тогда как частота ПЭЛ отличается во всех вариантах скрещиваний (рисунок 25-26, таблица 3, приложение 5).

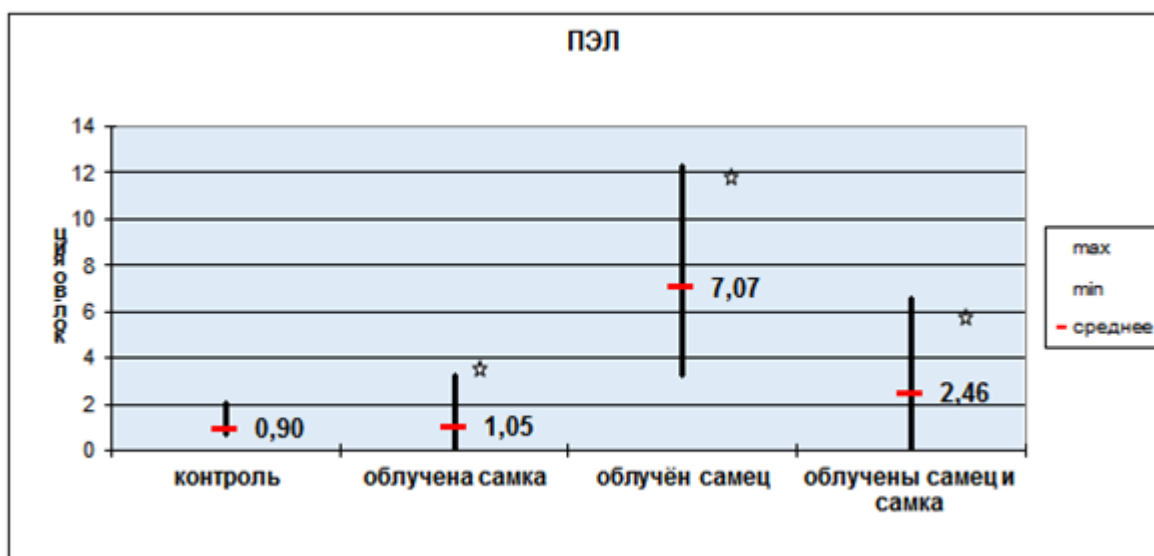


Рис. 24. Частота поздних эмбриональных доминантных леталей линии «Биос-3» при воздействии γ -излучения дозой 26,31 Гр с учетом гендерных различий.

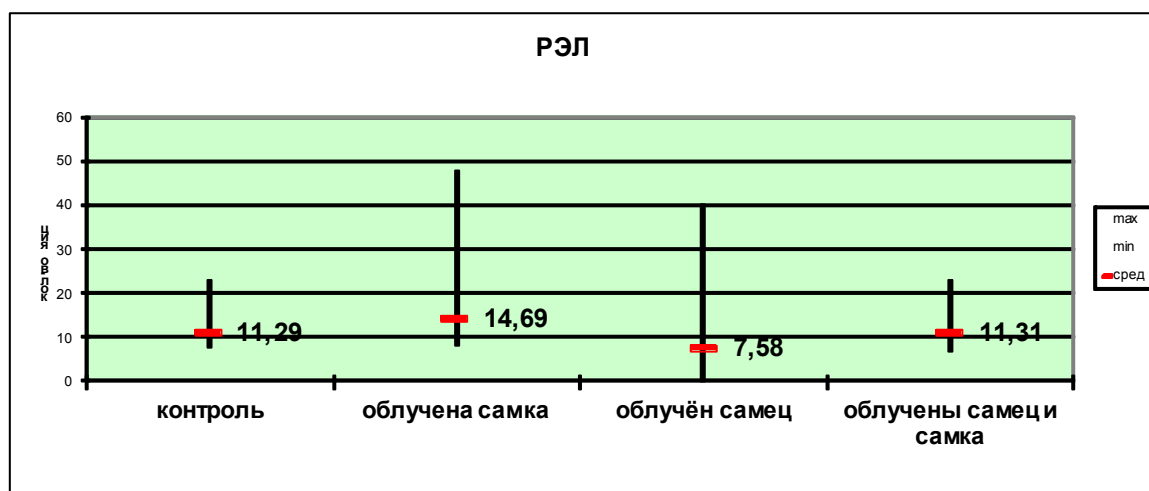


Рис. 25. Частота ранних доминантных леталей линии «Белгород» при воздействии γ -излучения дозой 26,31 Гр с учетом гендерных различий.



Рис. 26. Частота поздних эмбриональных доминантных леталей линии «Белгород» при воздействии γ -излучения дозой 26,31 Гр с учетом гендерных различий.

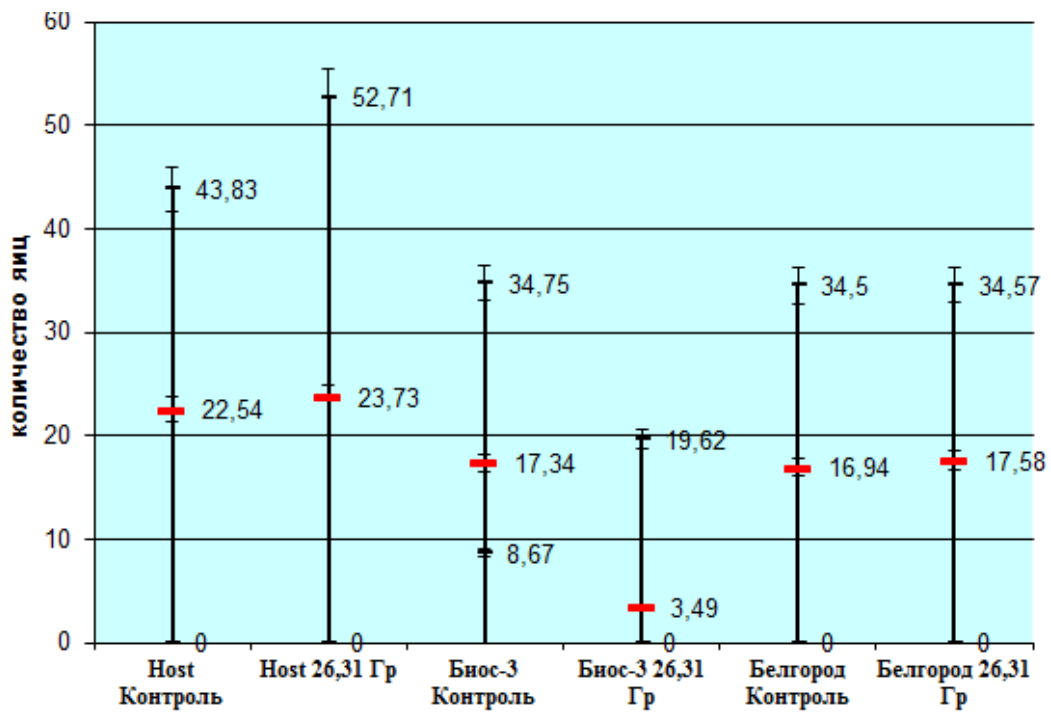


Рис. 27. Средняя индивидуальная плодовитость особей линий дикого типа при воздействии 26,31 Гр γ -излучения.

Дополнительно γ -излучению дозой 26,31 Гр была подвергнута линия «Host» (Екатеринбург, 2005). В отличие от линий «Белгород» и «Биос-3» воздействие радиацией произвело стимулирующий эффект на СИП, но при этом значительно увеличилась и частота РЭЛ и ПЭЛ. Таким образом, установили, что действие γ -излучения может вызывать как снижение, так и повышение уровня фертильности (рисунок 27-29).

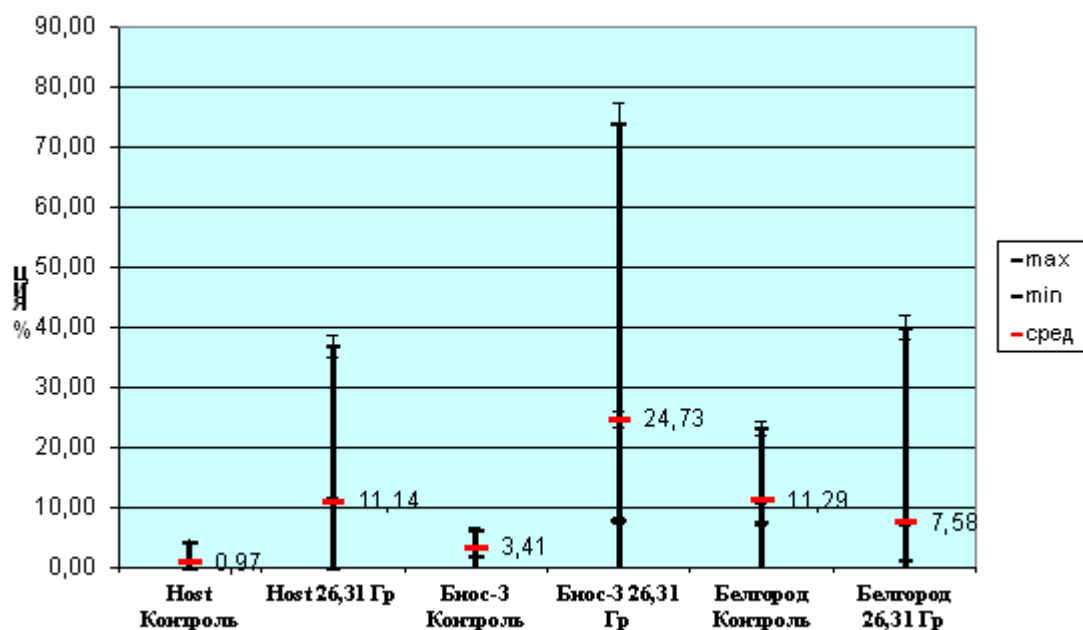


Рис. 28. Частота ранней эмбриональной гибели особей дикого типа F_1 , после воздействия на родительское поколение 26,31 Гр γ -излучения.

Следовательно, воздействие высокими дозами ионизирующих излучений позволило выявить линейные различия в линиях «Биос-3», «Белгород» и «Host». Выявлена корреляция чувствительности на уровне генеративных и соматических клеток. Провели искусственную классификацию линий на чувствительные и устойчивые: «Биос-3» определили, как более чувствительную к воздействию ионизирующих излучений, а линию «Белгород» как более устойчивую, чем «Биос-3».

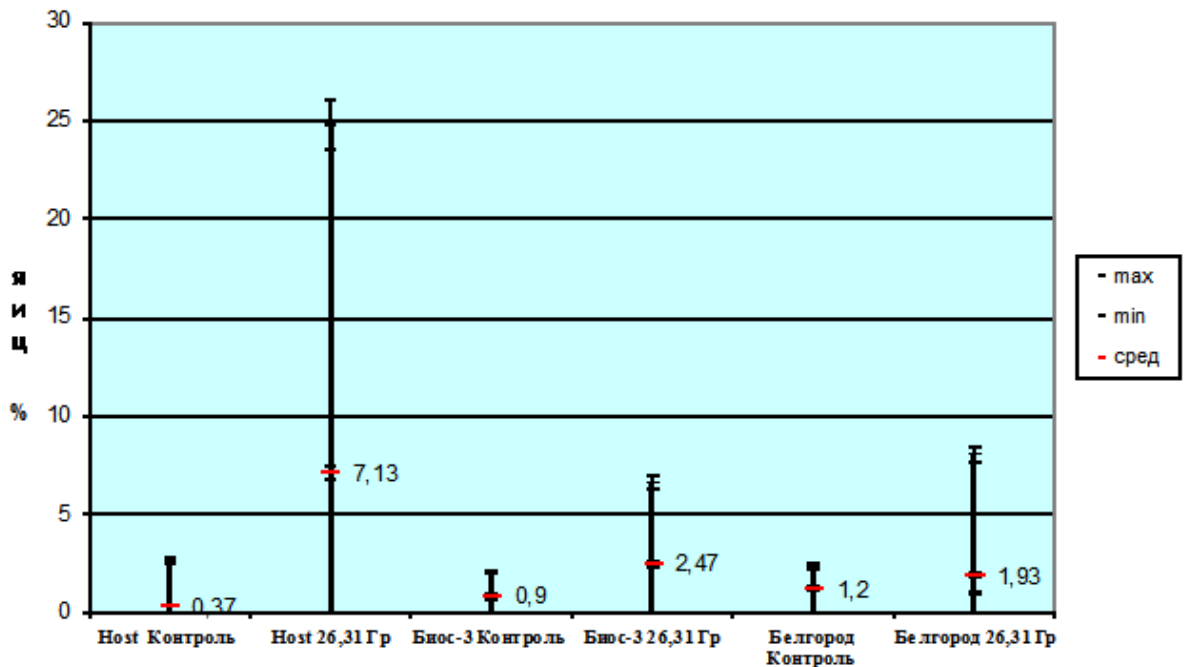


Рис. 29. Частота поздней эмбриональной гибели особей дикого типа F_1 , после воздействия на родительское поколение 26,31 Гр γ -излучения.

Для проведения экспериментов, посвященных воздействию β -излучения, использовали лейцин, меченный ^{14}C 3 МБк/мл. Достоверное снижение плодовитости отметили в следующих экспериментальных группах в линиях «Биос-3»: где воздействию подвергался либо самец, либо самка, и «Белгород»: где на разных этапах личиночного развития воздействию подвергались обе особи, а также в эксперименте с самкой.

Увеличение частоты гибели потомства на поздней эмбриональной стадии наблюдали в линии «Белгород» в группе, где воздействию подвергались обе особи. В свою очередь в линии «Биос-3» достоверные отличия выявлены только при воздействии на личинок 1 возраста (таблица 4, приложение 3).

Таблица 4.

Показатели жизнеспособности линий «Биос-3» и «Белгород» после воздействия β -излучением удельной активностью 3 МБк/мл ($M \pm m$)

Показатель Линия – воздействие	СИП (средняя индивидуальна я плодовитость)	РЭЛ (частота встречаемости ранней эмбриональной смертности F1)	ПЭЛ (частота встречаемости поздней эмбриональной смертности F1)
Биос-3-Контроль	22,38 \pm 0,43	10,34 \pm 0,41	1,50 \pm 0,10
Биос-3 ♀ и ♂	19,44 \pm 0,22	5,97 \pm 0,12*	2,66 \pm 0,12*
Биос-3 ♀	13,05 \pm 0,29*	7,01 \pm 0,61	2,67 \pm 0,24
Биос-3 ♂	10,47 \pm 0,15*	16,53 \pm 1,34	2,93 \pm 1,84
Белгород-Контроль	20,14 \pm 0,47	4,79 \pm 0,36	1,02 \pm 0,08
Белгород ♀ и ♂	24,46 \pm 0,29*	6,3 \pm 0,32	3,84 \pm 0,21*
Белгород ♀	6,02 \pm 0,13*	8,76 \pm 0,67	1,82 \pm 0,18
Белгород ♂	14,29 \pm 0,49	4,53 \pm 0,79	1,51 \pm 0,14

Примечание: в таблице достоверные отличия выделены звездочкой.

Также провели анализ изменения СИП в линии «Белгород», после воздействия γ и β -излучений в ряду поколений (пролонгирующий эффект). Данная линия была выбрана нами для установления возможного отсроченного эффекта от воздействия фактора. Как представлено на рисунках 30-31 максимум плодовитости после воздействия излучения обоих типов наблюдается в F₂, что свидетельствует в пользу того, что к третьему поколению нивелируется действие излучения на генеративные клетки (рисунок 30-31).

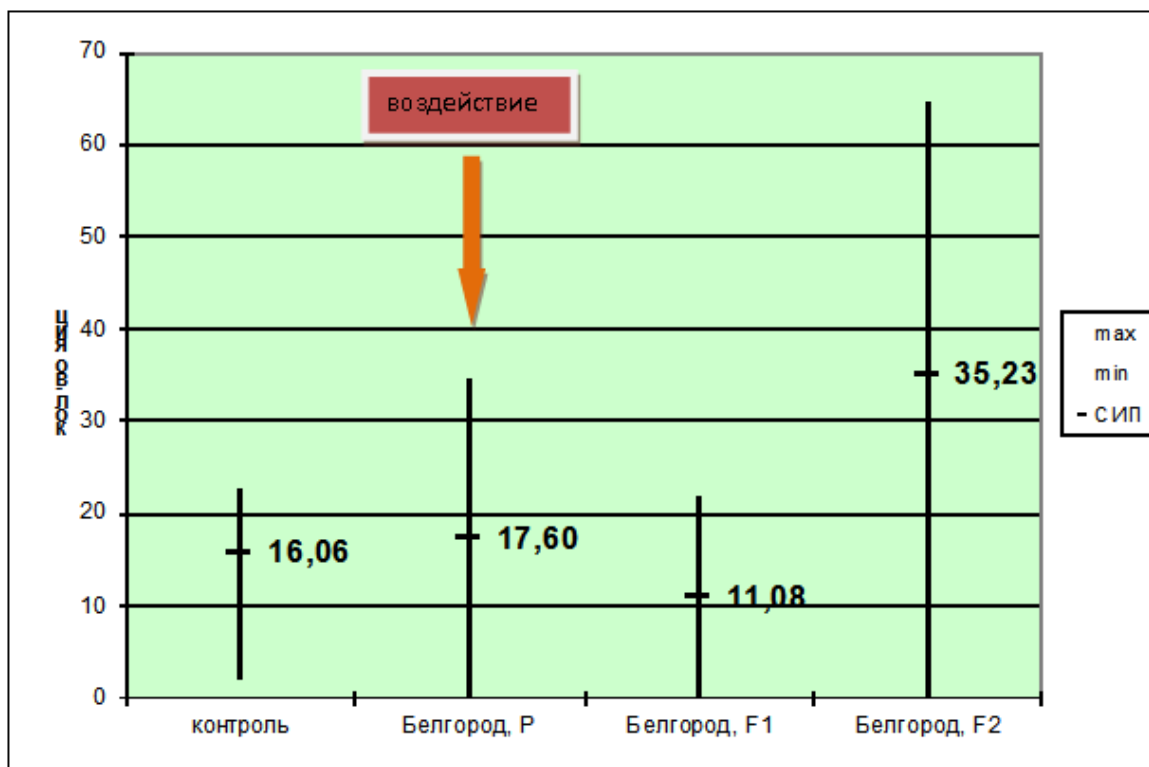


Рис. 30. Средняя индивидуальная плодовитость линии «Белгород» в ряду поколений после воздействия γ -излучения дозой 26,31 Гр.

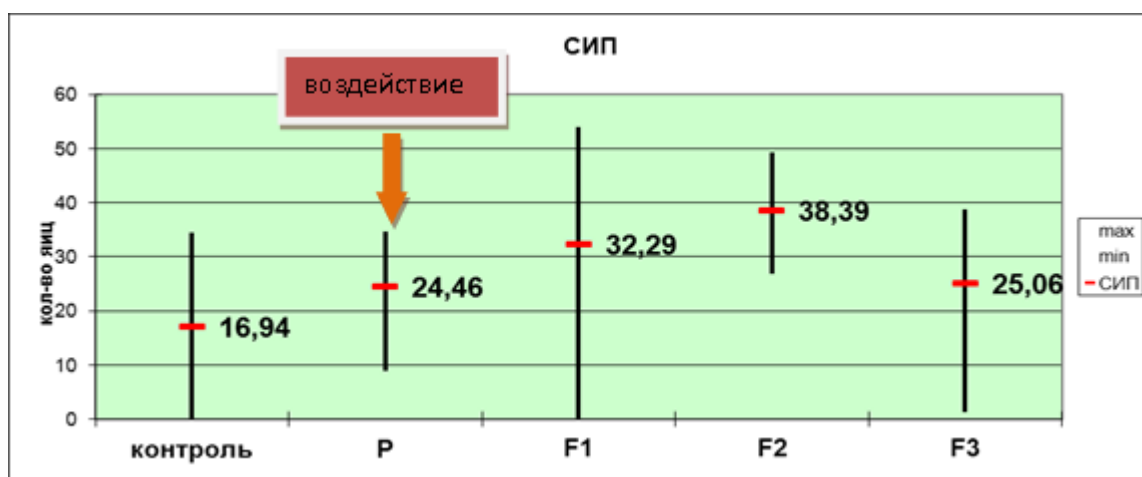


Рис. 31. Редняя индивидуальная плодовитость линии «Белгород» в ряду поколений после воздействия ^{14}C 3 МБк/мл.

Соответственно, действие фактора стресса физической природы на линии дикого типа не является одинаковым, частично это можно объяснить

гетерогенностью линий, а также возможным различным количеством и локализацией мобильных генетических элементов. Используемые в работе три линии дикого типа *Drosophila melanogaster* характеризуются различным генотоксическим эффектом, производимым различными видами излучений, что позволяет их условно классифицировать как радиочувствительные и радиоустойчивые.

В отношении воздействия факторов стресса химической природы в особую группу входит изучение влияния противораковых лекарственных препаратов, а конкретно цитостатиков с различными механизмами воздействия на клетки. Большинство исследований посвящено цитостатикам антиметаболитам, таким как метотрексат и аминоптерин, в связи с их отрицательным воздействием на синтез ДНК посредством того, что они способны ингибировать дигидрофолатредуктазу, а также широким применением в практике. В частности, у дрозофилы помимо негативного влияния на плодовитость и изменения частоты гибели потомства на разных уровнях развития, может наблюдаться интенсификация апоптоза в крыловом имагинальном диске, впоследствии данное усиление вызывает наличие повреждения типа «вырезка» на крыловой пластинке имаго. Воздействие других цитостатических препаратов также интенсивно исследуется:

1. цитостатики антибиотики: актиномицин Д, митомицин-С;
2. алкилирующие агенты: циклофосфан;
3. препараты растительного происхождения: колхицин, этопозид.

В ряде работ показано, что наблюдается генотоксический эффект цитостатических препаратов, которые применяются на практике при различных концентрациях. Также исследуется гелданамицин, препарат способный ингибировать активность белка теплового шока Hsp90, что приводит к уменьшению уровня стрессового ответа клеток. Соответственно, определение геномной нестабильности, вызванной факторами стресса химической природы в линиях дикого типа *D. melanogaster*, остается актуальным.

Три линии дикого типа: «Host», «Биос-3», «Белгород», выращенные на среде, содержащей цитостатики демонстрируют различную степень реакции на данный вид стресса. Анализируя линии на наличие повреждений типа «вырезка» на крыле показано, что повреждения формируются у особей, выращенных на препаратах группы антиметаболитов, таких как метотрексат. Относительно остальных цитостатических препаратов подобного эффекта не было выявлено, возможно, из-за малой концентрации, используемой в работе, а также из-за не столь явно выраженного апоптоза, последствия, которого компенсируются за счет миграции и увеличения размеров клеток. Концентрация 2 мкг/кг среды была выбрана для получения достаточного количества жизнеспособных особей, необходимых для анализа плодовитости и морфометрического анализа крыла, а также для выявления линейных различий и различий в токсичности препарата. К тому же для 2-х линий из трех она является близкой 50 LD (таблица 5).

Таблица 5.

Частота летальности мух при воздействии метотрексатом различной концентрации у трех линий *Drosophila melanogaster*

Линия (%погибших особей) Повторности (доза мкг/кг среды)	Биос-3	Белгород	Host
I (2 мкг/кг)	50,50	76,50	52,00
II (2 мкг/кг)	50,50	63,50	52,50
III (2 мкг/кг)	54,00	76,50	63,50
\bar{x} повторностей	51,67±0,95%	72,17±3,54%	56,00±3,07%
I (10 мкг/кг)	84,00	80,50	79,00
II (10 мкг/кг)	88,00	87,50	76,00
III (10 мкг/кг)	81,00	82,00	80,00
\bar{x} повторностей	84,33±1,66%	83,33±1,74%	78,33±0,98%
\bar{x} (контрольная группа)	8,20%	25,40%	20,40%

Анализируя жизнеспособность, определили снижение плодовитости особей у всех трех линий относительно контрольной группы, наблюдаемое при воздействии гелданамицином (таблица 6).

Таблица 6.

Показатели жизнеспособности линий дикого типа *Drosophila melanogaster* при воздействии цитостатических препаратов: метотрексат, циклофосфан, митомицин-С, гелданамицин, этопозид (2 мкг/кг среды), ($M \pm m$)

Показатель Линия – воздействие	СИП (средняя индивидуальна я плодовитость)	РЭЛ (частота встречаемости ранней эмбриональной смертности F1)	ПЭЛ (частота встречаемости поздней эмбриональной смертности F1)
Биос-3-Метотрексат	12,44±1,42*	2,52±0,77	1,01±0,26
Биос-3-Митомицин-С	25,59±2,05	1,30±1,04	0,15±0,06*
Биос-3-Этопозид	21,91±1,71	3,54±0,91	1,19±0,41
Биос-3-Циклофосфан	10,06±1,85*	1,59±0,37	0,54±0,10*
Биос-3-Гелданамицин	6,54±1,83*	2,92±1,09	0,61±0,23
Биос-3-Контроль	26,99±2,34	3,78±0,89	1,20±0,61
Белгород-Метотрексат	21,68±1,62	2,50±0,74	1,84±0,52
Белгород-Митомицин-С	30,58±2,42*	0,23±0,22	0,13±0,09
Белгород-Этопозид	28,36±1,61*	4,48±0,85	0,45±0,12
Белгород-Циклофосфан	28,36±1,61*	4,48±0,85	0,40±0,11
Белгород-Гелданамицин	3,24±0,98*	13,94±3,24	0,57±0,22
Белгород-Контроль	34,49±2,77	1,11±0,46	0,73±0,23
Host-Метотрексат	17,79±2,26	3,70±1,14	0,96±0,36
Host-Митомицин-С	24,40±1,60	0,11±0,09*	0,06±0,05
Host-Этопозид	23,54±1,73	6,4±1,31	0,59±0,13
Host-Циклофосфан	15,30±2,20	1,43±0,52	0,06±0,02
Host-Гелданамицин	0,57±0,24*	15,2±3,80	0,54±0,38
Host-Контроль	18,74±2,67	3,11±0,92	0,66±0,21

Примечание: в таблице достоверные отличия выделены звездочкой.

Установлено, что линия «Биос-3» при воздействии циклофосфаном реагировала не повышением смертности особей на эмбриональном уровне, а понижением (на всех этапах развития наблюдается снижение частоты встречаемости гибели потомства), подобную картину можно отметить и в линии «Белгород», но при воздействии этопозидом (повышение частоты встречаемости ранней эмбриональной летальности и понижение частоты встречаемости поздней эмбриональной летальности). Разная чувствительность этих двух линий к вышеуказанным препаратам отражает линейные различия, а также демонстрирует избирательную чувствительность к различным факторам химического стресса. В отношении плодовитости линии «Биос-3» и «Белгород» реагируют на разные цитостатические препараты: «Биос-3» на метотрексат и циклофосфан, а линия «Белгород» на митомицин-С и этопозид. (таблица 6, приложение 6).

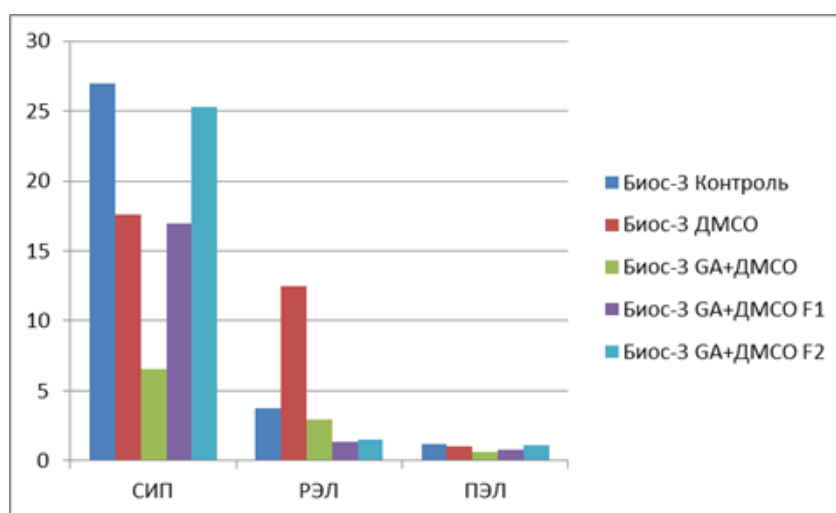


Рис. 32. Показатели жизнеспособности линии «Биос-3» при воздействии гелданамицином (пролонгирующий эффект).

Также был проведен ряд исследований, посвященных пролонгирующему действию гелданамицина на уровне генеративных клеток (рисунок 32-34). В связи с тем, что гелданамицин растворялся в ДМСО, для

сравнения приводятся значения, полученные при воздействии: гелданамицин+ДМСО, только ДМСО и контрольной группы (таблица 7).

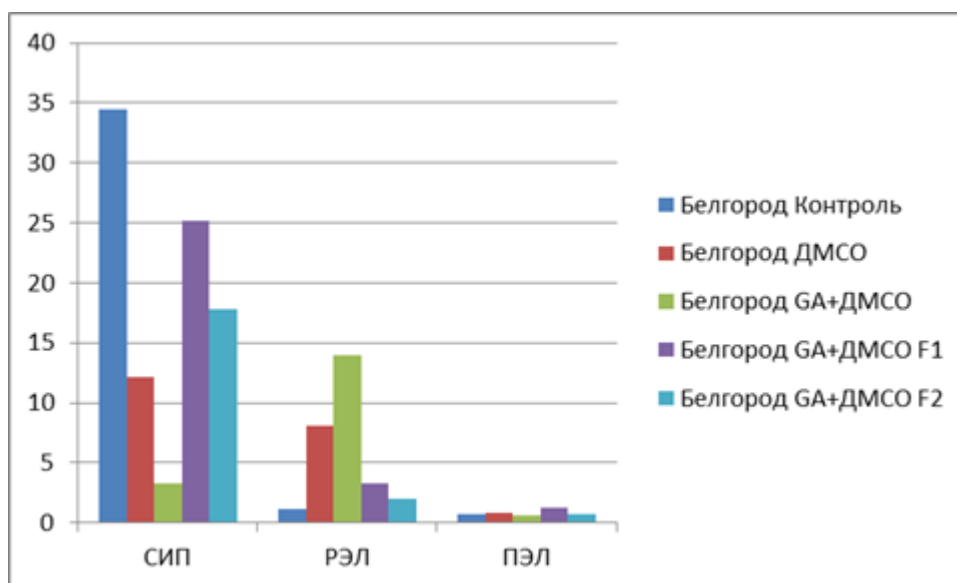


Рисунок 33. Показатели жизнеспособности линии «Белгород» при воздействии гелданамицином (пролонгирующий эффект).

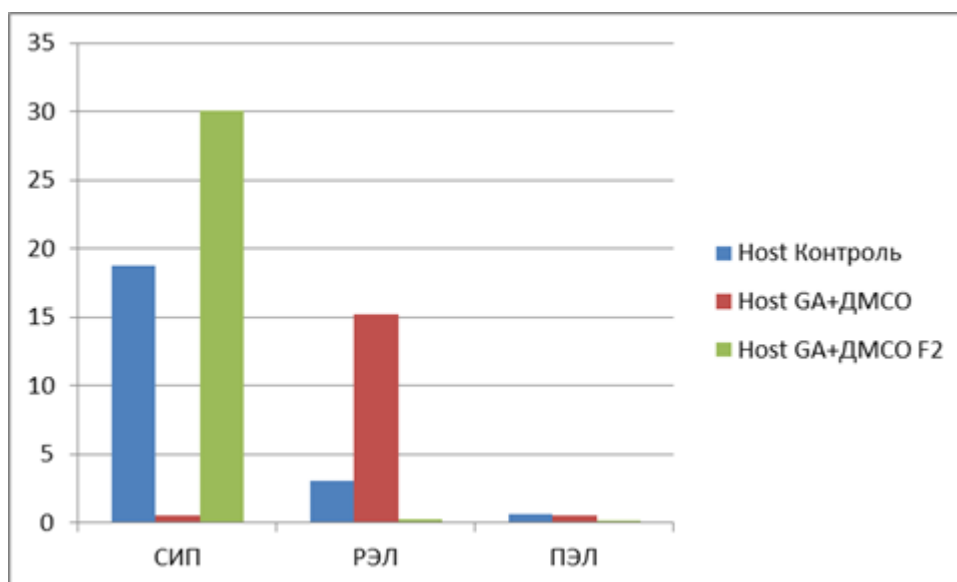


Рис. 34. Показатели жизнеспособности линии «Host» при воздействии гелданамицином (пролонгирующий эффект).

Таблица 7.

Показатели жизнеспособности линий дикого типа *Drosophila melanogaster* при воздействии гелданамицина и пролонгирующий эффект его в ряду поколений после воздействия на родительских особей ($M \pm m$)

Показатель Линия – воздействие	СИП (средняя индивидуальна я плодовитость)	РЭЛ (частота встречаемости ранней эмбриональной смертности F1)	ПЭЛ (частота встречаемости поздней эмбриональной смертности F1)
Биос-3 ДМСО	17,6 \pm 1,91*	12,51 \pm 2,46	1,05 \pm 0,27
Биос-3 GA+ДМСО	6,54 \pm 1,83*	2,92 \pm 1,09*	0,61 \pm 0,23
Биос-3 GA+ДМСО F1	16,97 \pm 1,74*	1,32 \pm 0,87	0,75 \pm 0,27
Биос-3 GA+ДМСО F2	25,28 \pm 1,68	1,52 \pm 0,52	1,09 \pm 0,34
Биос-3-Контроль	26,99 \pm 2,34	3,78 \pm 0,89	1,20 \pm 0,61
Белгород ДМСО	12,10 \pm 1,59*	8,04 \pm 1,56*	0,79 \pm 0,21
Белгород GA+ДМСО	3,24 \pm 0,98*	13,94 \pm 3,28	0,57 \pm 0,22
Белгород GA+ДМСО F1	25,19 \pm 1,56*	3,27 \pm 2,04	1,23 \pm 0,64
Белгород GA+ДМСО F2	17,78 \pm 1,50	2,02 \pm 0,54	0,76 \pm 0,26
Белгород-Контроль	34,49 \pm 2,77	1,11 \pm 0,46	0,73 \pm 0,23
Host GA+ДМСО	0,57 \pm 0,24*	15,20 \pm 3,80	0,54 \pm 0,38
Host GA+ДМСО F2	30,03 \pm 2,39*	0,30 \pm 0,10	0,19 \pm 0,08
Host-Контроль	18,74 \pm 2,67	3,11 \pm 0,92	0,66 \pm 0,21

Примечание: в таблице достоверные отличия выделены звездочкой.

Анализ жизнеспособности линий проводился до F₂. В таблице 7 приведены значения, в соответствии с которыми, обе линии «Биос-3» и «Белгород» характеризуются меньшей чувствительностью к такому препарату как гелданамицин, чем линия «Host», но при этом все три линии после выращивания на среде с гелданамицином демонстрируют очень низкую плодовитость и высокую эмбриональную гибель потомства. В линии «Host» после добавления в питательную среду ДМСО наблюдалась

настолько высокая гибель особей, что выживаемость оказалась недостаточной для проведения анализа плодовитости и учета частоты встречаемости эмбриональных леталей на разных этапах развития. К тому же высокая частота гибели особей зафиксирована в F_1 после воздействия гелданамицина.

Таким образом, установлено, что генотоксический эффект, наблюдаемый при воздействии цитостатиками, у различных линий дикого типа также отличается, как и при воздействии излучением. Устойчивость к различным препаратам линии Host нарушается при воздействии гелданамицином. Избирательность в более сильном эффекте на одни факторы стресса, и менее выраженном эффекте при действии других факторов обуславливает линейные различия, а также может возникать благодаря исходному адаптационному резерву (амплификация, меньшая частота летальности на эмбриональной стадии, большая геномная стабильность).

3.2. Морфометрический анализ крыла как метод оценки воздействия факторов стресса на геномную нестабильность

Изменение пространственной структуры крыловой пластинки является одним из важных показателей, отражающих воздействие различных факторов стресса, в том числе и косвенно на геномную нестабильность. В работе использовали линии дикого типа *Drosophila melanogaster*. Воздействие производилось факторами стресса физической и химической природы. Для более полного анализа действия факторов стресса на соматические клетки имагинального крылового диска и развивающегося из него крыла использовали следующие показатели:

1. Частота встречаемости рентгеноморфозов и хемоморфозов типа «вырезка» на крыле.
2. Определение коэффициента флуктуирующей асимметрии (КФА) имагинальных дисков при воздействии γ -излучения.
3. Морфометрический анализ крыла.

Биологический эффект γ -излучения прослежен на уровне соматических клеток при изучении площади имагинальных крыловых дисков, сравнительного анализа морфометрических показателей крыла и анализа частоты встречаемости рентгеноморфозов типа «вырезка» на крыле. Было произведено вычисление КФА с учетом половых различий. У самок и самцов тенденция ответа на стресс практически одинаковая. Но линейные различия проявляются: «Биос-3» КФА увеличивается в 1,1 раза у самок и в 1,5 раза у самцов относительно контрольной группы. В линии «Белгород» КФА понизился в 1,3 раза у самок и в 2,5 раза у самцов (рисунок 35-36, Приложение 23-25). По поводу полученных результатов мы можем выдвигать некоторые предположения. Во-первых, известно, что во время закладки диска на уровне бластодермы родоначальницами на правой и левой стороне могут служить разные количества клеток, определяя тем самым

повышенный показатель КФА, а во-вторых, нужно учитывать также гибель клеток при действии радиации, которая может отличаться на правой и левой сторонах.

Сравнительный анализ морфометрических параметров крыла показал, что наибольшему изменению соотношения параметров крыла подвергаются особи при дозе 8,77 Гр как при рентгеновском, так и при γ -излучении в обеих линиях *D. melanogaster*.

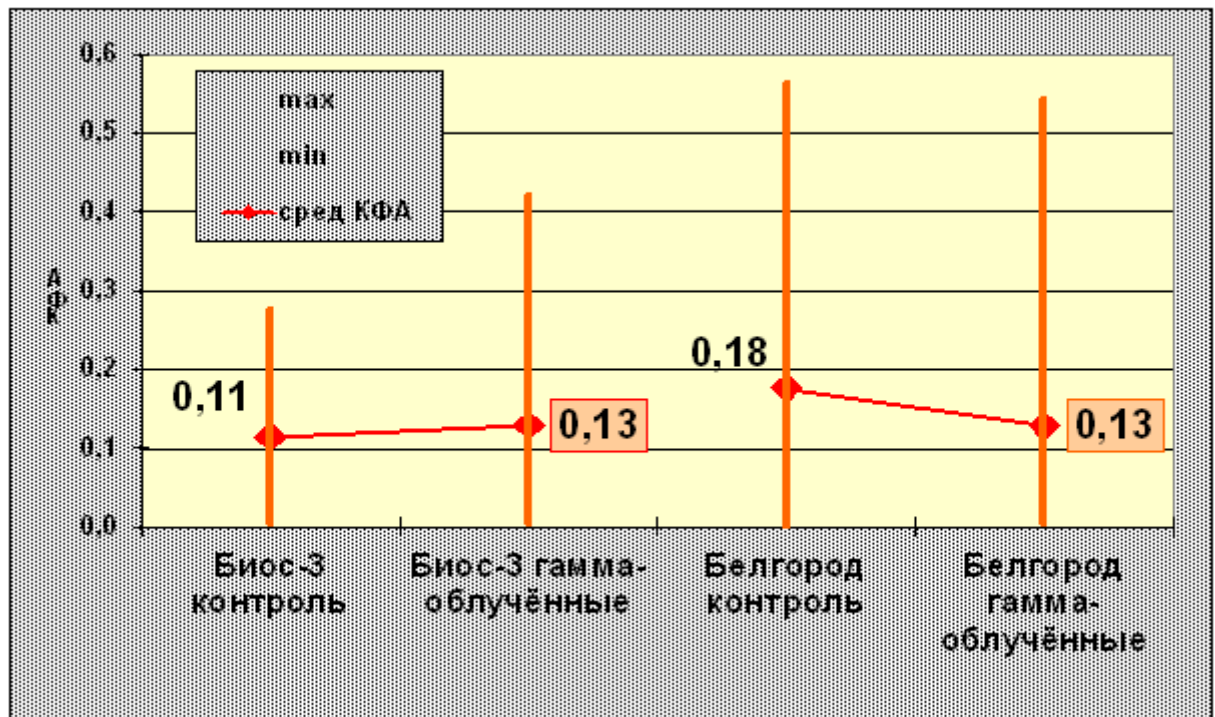


Рис. 35. Влияние γ -излучения на степень флуктуирующей асимметрии имагинального дорзального мезоторакального диска у самок линий дикого типа.

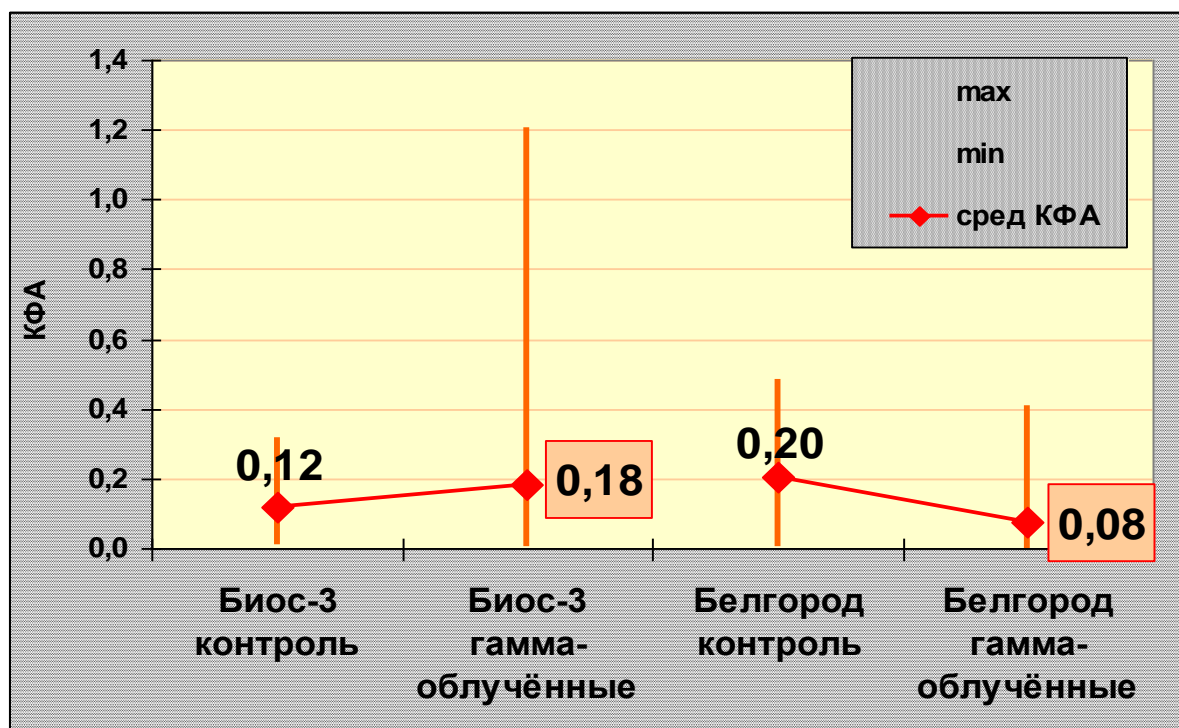


Рисунок 36. Влияние γ -излучения на степень флуктуирующей асимметрии имагинального дорзального мезоторакального диска у самцов линий дикого типа.

Данные морфометрического анализа крыла линии дикого типа «Белгород» обнаружили различия относительно линейных и двумерных параметров, как в случае воздействия γ -излучением, так и рентгеновским излучением. При воздействии γ -излучением дозой 8,77 Гр, 17,54 Гр и 26,31 Гр измерение по 18-ти линейным параметрам крыла не демонстрирует статистически значимых различий. Таким образом, суммирующая соотношения линейных параметров крыла, хотя и имеет некоторые изменения по Оси 2 (рисунок 37, приложение 11) соответственно дозе облучения, не имеет существенных отклонений от контроля. Стоит также заметить, что морфометрические данные облучённых особей смещены по Оси 1 относительно контроля. Последний факт ясно свидетельствует в пользу предположения, что наличие облучения в любом случае сказывается на соотношении параметров внутри крыла.

Однако, присутствие в анализе таких параметров, как KB, KI, KE, KD, KF, MN не позволяло разделить выборки мух на классы по дозе облучения (рисунок 38). Предположительно, это может объясняться незначительным воздействием γ -излучения на изменение линейных параметров крыла у особей данной линии.

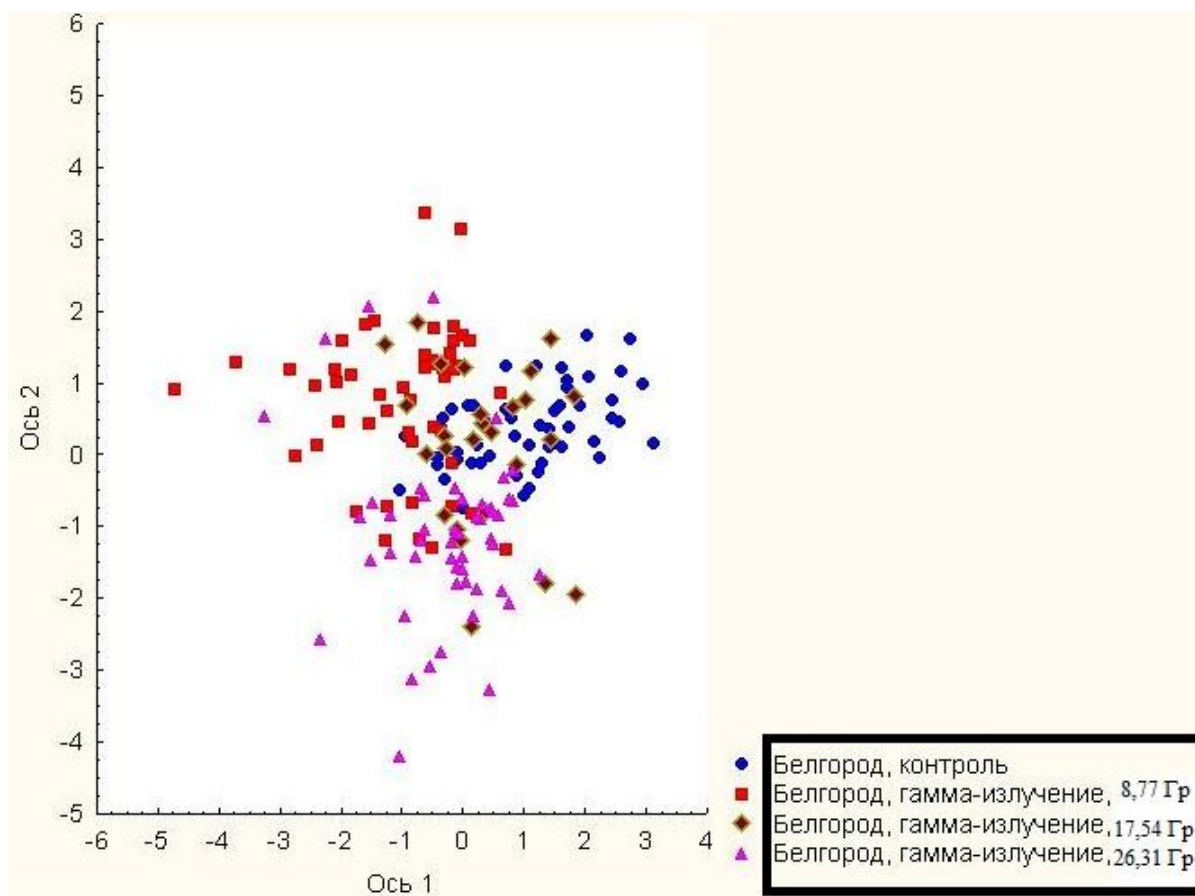


Рис. 37. Канонический анализ морфометрических показателей крыла линии «Белгород» *D. melanogaster*, полученных в результате воздействия γ -излучения.

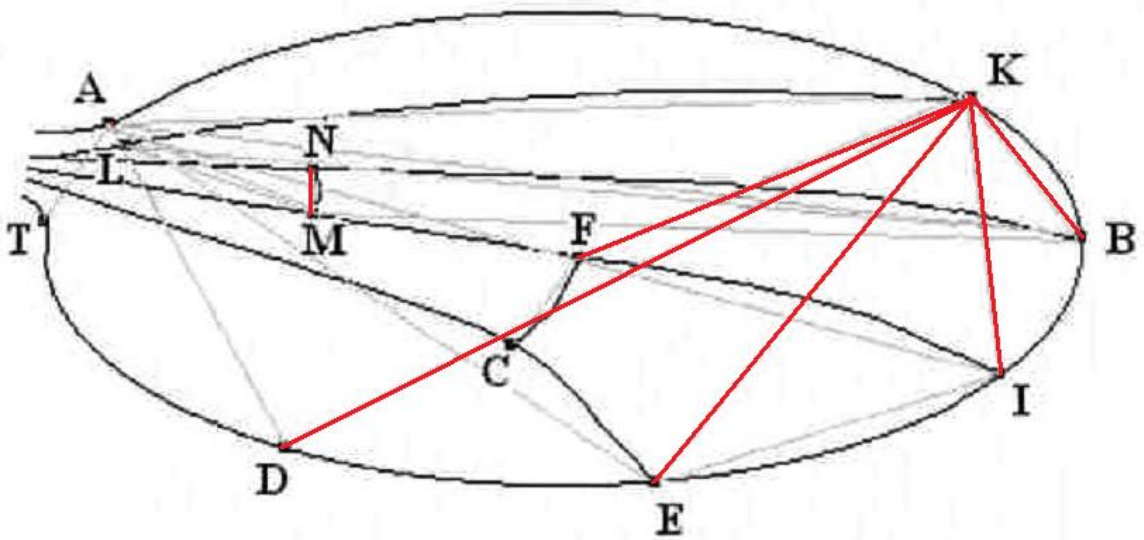


Рис. 38. Морфометрические параметры крыла (консервативные), включение которых в анализ не позволяет обнаружить различия по дозам гамма-излучения в линии дикого типа «Белгород».

При проведении канонического анализа, включающем площади ячеек крыла, экспериментальные выборки разделяются, однако очень слабо (рисунок 39). Снова можем наблюдать смещение параметров всех облучённых особей относительно контроля по Оси 1, характеризующей некий основной фактор, определяющий отличия между выборками (предположительно γ -излучение).

Таким образом, снова подтверждается тот факт, что облучение любой из использованных доз однозначно меняет соотношение параметров крыла, в данном случае на уровне площади ячеек.

Примечательно, что морфометрический анализ осложнялся присутствием значений площадей 22-й и 24-й ячеек. Причиной этого можно также считать высокую нестабильность дистальной части крыла при воздействии γ -излучения.

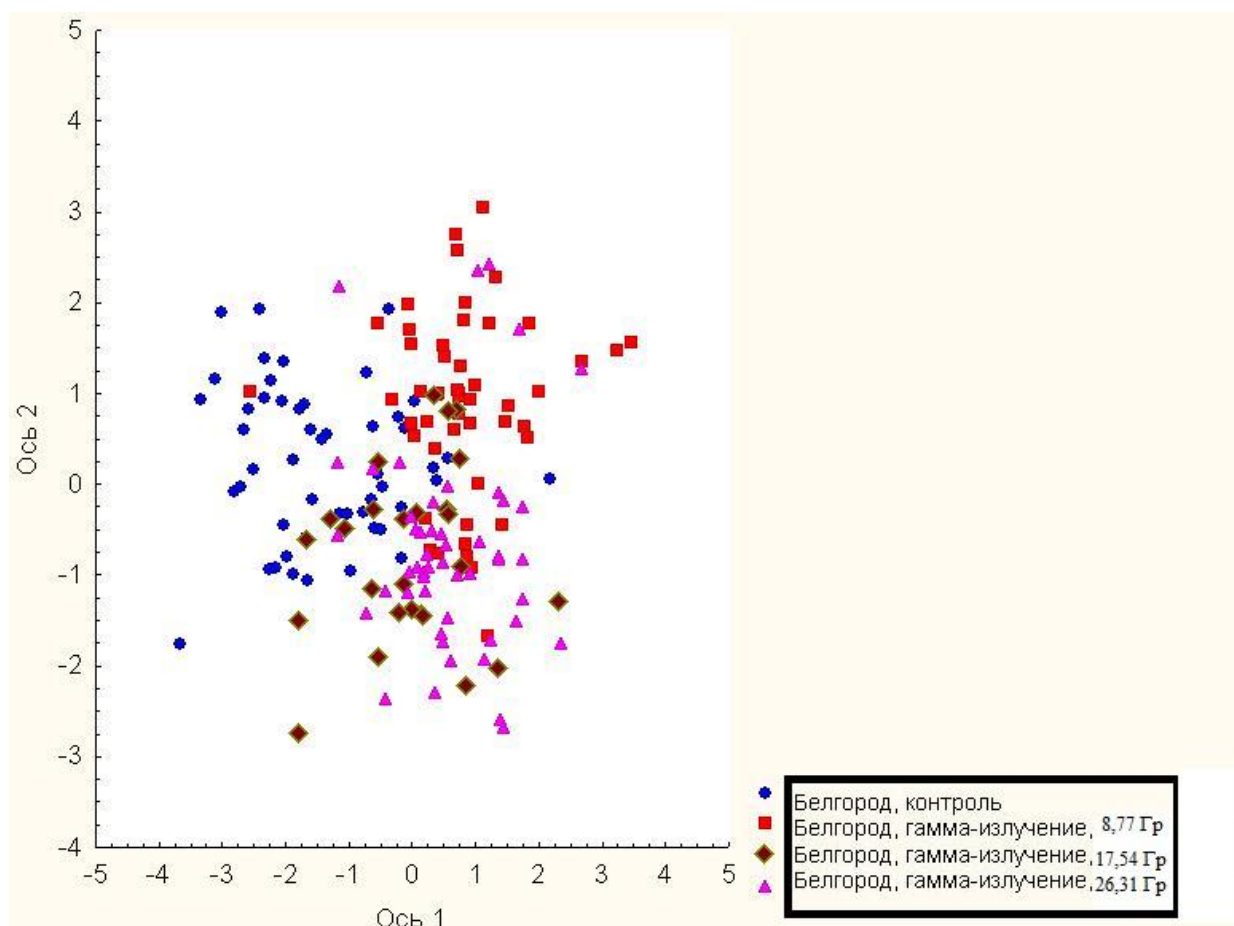


Рис. 39. Канонический анализ морфометрических показателей крыла выборок линии «Белгород» *D. melanogaster*, полученных в результате воздействия γ -излучения.

Сходная тенденция наблюдается при исследовании выборок мух линии «Белгород», подвергнутых рентгеновскому излучению: наличие воздействия любой из представленных доз приводит к смещению суммирующей морфометрических параметров по Оси 1 относительно контроля (рисунок 40, приложение 10). Однако, в данном случае, при дозе 8,77 Гр обнаружили гораздо более значимые отличия, относительно других используемых в данной работе доз. Предположительно, это может быть связано с интенсивным отбором при воздействии высоких доз радиации, таким образом, параметры выборок мух, облучённых 17,54 Гр и 26,31 Гр, практически «накладываются» на морфометрические характеристики

необлучённых мух либо к чувствительности данной линии к более низким дозам. Данные наблюдения касаются как линейных параметров крыла, так и двумерных параметров (рисунок 41).

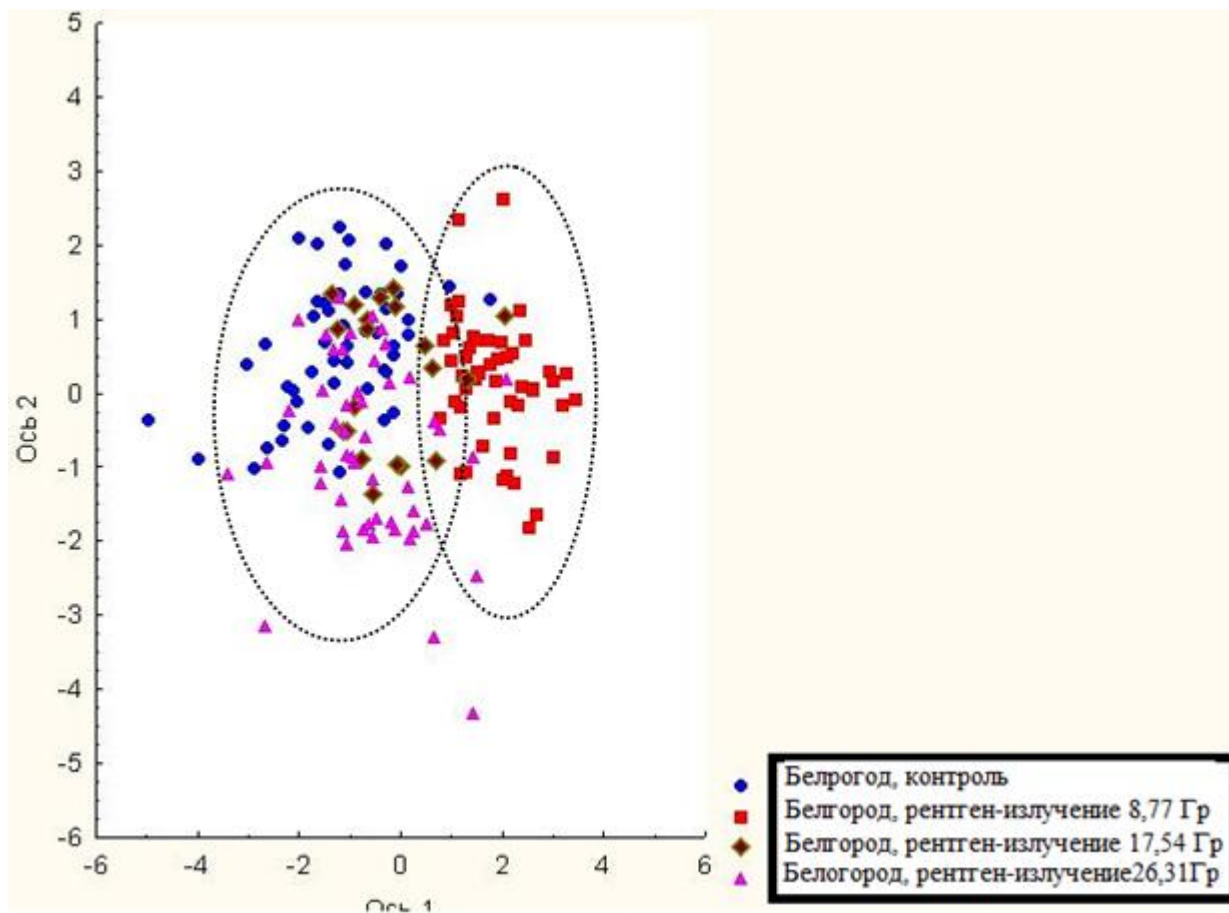


Рис. 40. Канонический анализ линейных морфометрических показателей крыла выборок линии «Белгород» *D. melanogaster*, полученных в результате воздействия рентгеновского излучения.

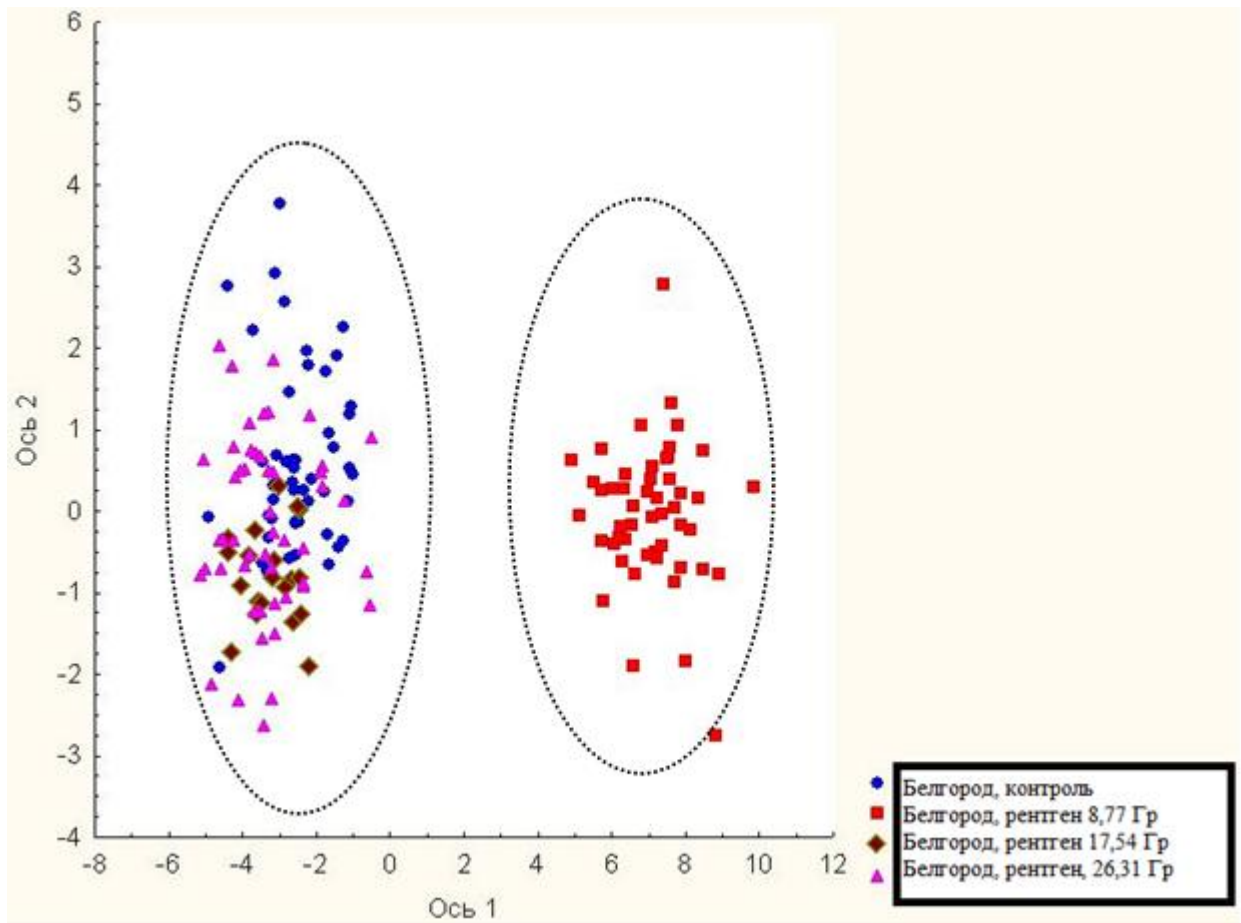


Рис. 41. Канонический анализ двумерных морфометрических показателей крыла выборок линии «Белгород» *D. melanogaster*, полученных в результате воздействия рентгеновского излучения.

При анализе пространственных характеристик крыла линии «Белгород» в условиях присутствия инкорпорированной радиоактивной метки ^{14}C , обнаруживаются значимые различия по всем, как линейным, так и двумерным параметрам (рисунок 42, приложение 7). Обе выборки, подвергнутые воздействию (Р) и после воздействия (F_1) по соотношению морфометрических показателей заметно отстоят от контроля по Оси 1 на графике (рисунок 42). Таким образом, согласно каноническому анализу, вновь на соотношение параметров крыла наибольшее воздействие оказывает само наличие воздействия β -излучения. Ось 2, по-видимому, может характеризовать продолжительность интенсивности эффекта фактора.

Можно наблюдать смещение вверх по Оси 2 показателей родительского поколения, непосредственно употреблявшего метку ^{14}C с пищей. Морфометрические параметры F_1 близки по значениям на Оси 2 к контролю, но всё же не идентичны характеристикам необлучённых особей.

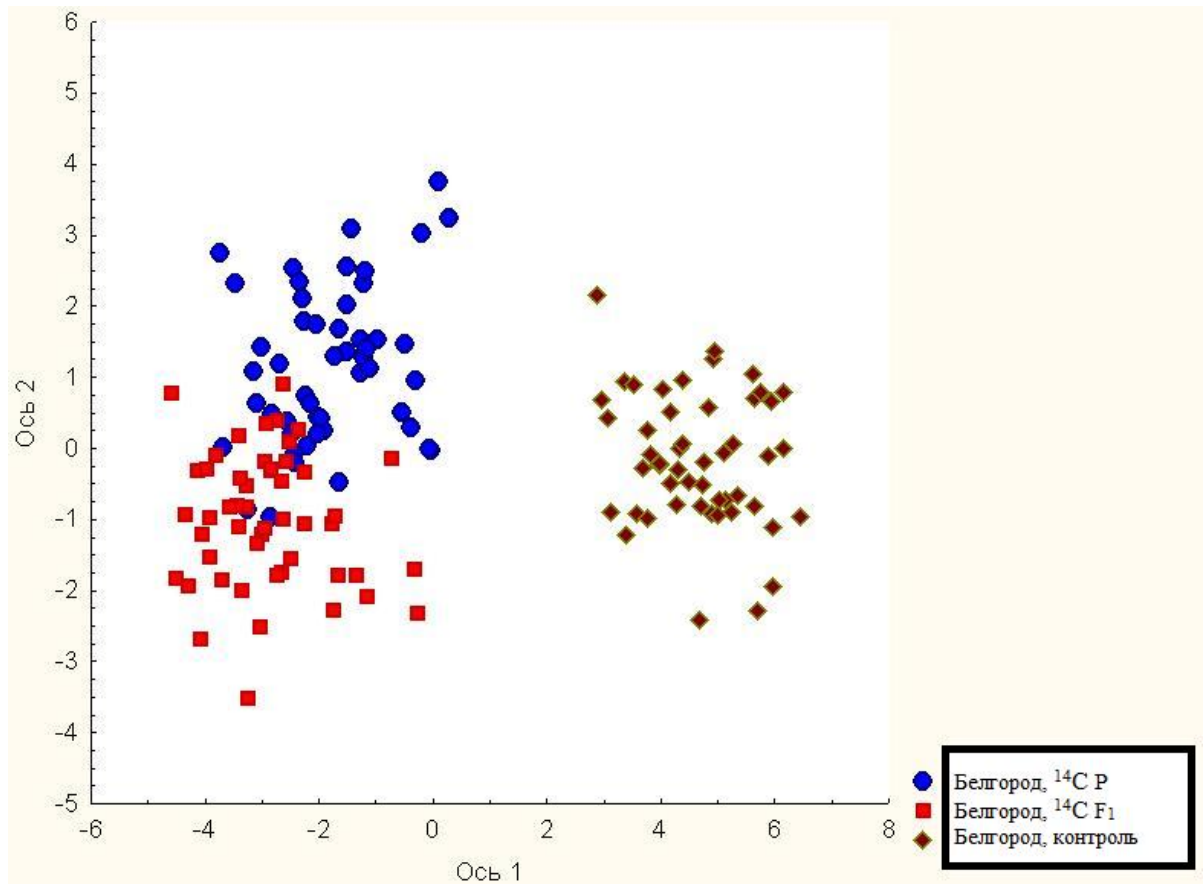


Рис. 42. Канонический анализ морфометрических показателей крыла выборок линии «Белгород» *D. melanogaster*, полученных в условиях присутствия инкорпорированной метки ^{14}C .

Соответственно, на уровне пространственной характеристики крыла для линии «Белгород» обнаружен достоверный эффект инкорпорированной метки ^{14}C , а также наличие пролонгирующего эффекта данного вида излучения.

По результатам морфометрического анализа параметров крыла выборки линии «Биос-3», подвергнутых воздействию γ -излучением, обнаружены достоверные различия (рисунок 43, приложение 12). В отличие от линии «Белгород», на графике выборки, облучённые разной дозой, хорошо разделяются и демонстрируют гораздо меньшую дисперсию значений показателей. Данные различия обнаружены при включении в анализ всех, как линейных промеров, так и площадей ячеек крыла.

На этот раз Ось 2 характеризует наличие воздействия, таким образом, уступая место другому фактору, который более явно влияет на соотношение морфометрических параметров крыла. Вероятно, что данный фактор может соответствовать дозе облучения (рисунок 43). Интересно, что значения показателей выборки особей, подвергшихся воздействию γ -излучения дозой 26,31 Гр, отклоняются по Оси 1 относительно контрольной выборки в иную сторону, нежели при воздействии другими дозами. Заметно, что доза 8,77 Гр значительно меняет структуру крыла, по крайней мере, относительно соотношений его морфометрических параметров. Особи, облучённые дозой 17,54 Гр, близки по характеристикам к контрольной выборке, и частично к выборке после воздействия дозой 8,77 Гр, несущим новые свойства пространственной структуры крыла. Изменения морфометрии крыла, вызванные дозой 26,31 Гр, качественно иные и ни по одной из основных осей (в графическом представлении анализа) практически не перекрываются с контрольной выборкой.

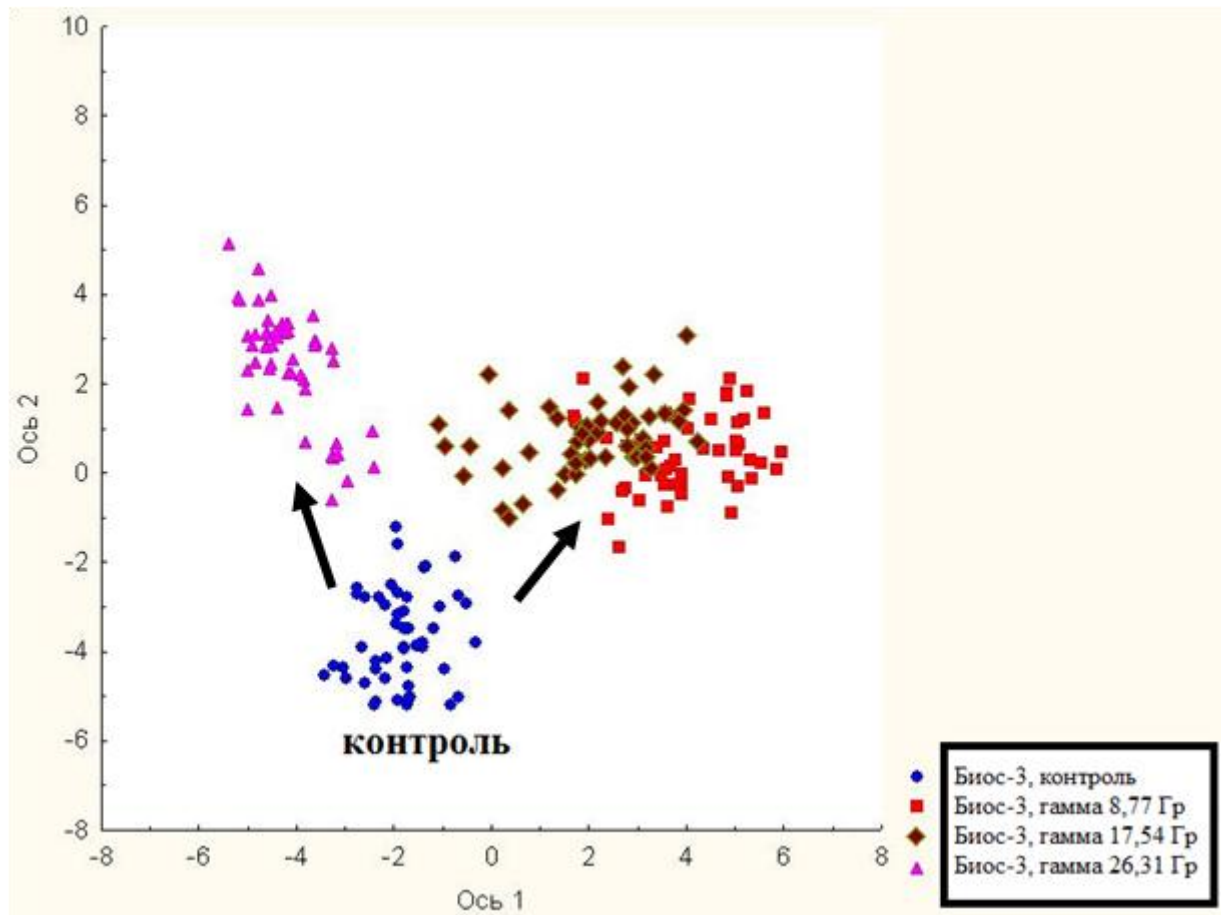


Рис. 43. Канонический анализ морфометрических показателей крыла выборок линии «Биос-3» *Drosophila melanogaster*, полученных при воздействии γ -излучения.

В случае воздействия рентгеновским излучением на особей линии «Биос-3» (рисунок 44, приложение 13) заметно, что Ось 1 отвечает предположительно за наличие облучения. Ось 2 достаточно сложно наверняка отождествить с каким-либо фактором, по той причине, что значения параметров контроля в сравнении с опытом, существенно более дисперсны.

По нашим предположениям, данный эффект при воздействии рентгеновским излучением возникает в результате выживания особей с достаточно узким спектром соотношений параметров крыла. Также, стоит отметить, что пространственные характеристики крыла особей, подвергнутых воздействию рентгеновским излучением дозой 8,77 Гр,

значительнее остальных обособлены от контроля и остальных выборок, что мы наблюдали в линии «Белгород» при воздействии обоих видов радиации.

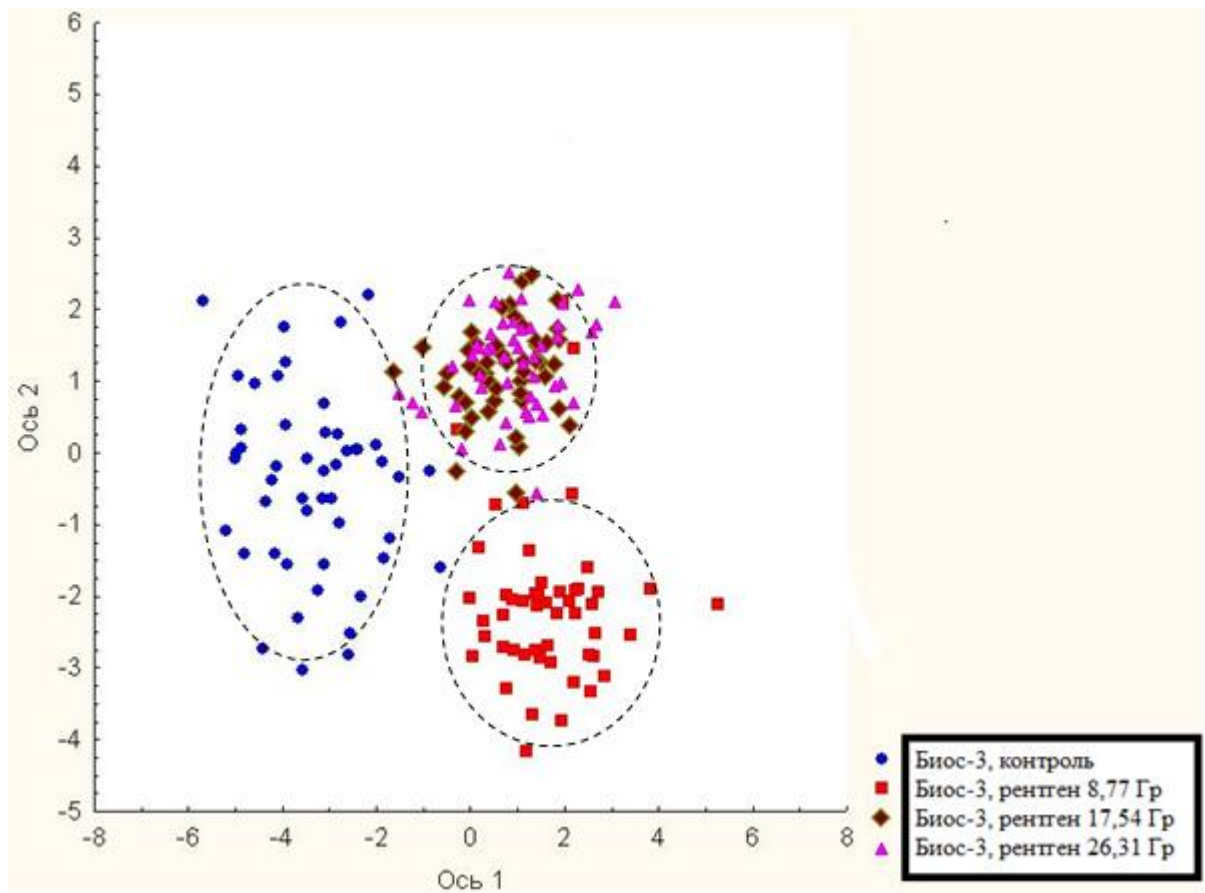


Рис. 44. Канонический анализ морфометрических показателей крыла выборок линии «Биос-3» *D. melanogaster*, полученных при воздействии рентгеновского излучения.

При попытке обнаружить наличие пролонгирующего эффекта на примере линии «Биос-3» в случае воздействия меткой ^{14}C , были получены результаты, аналогичными полученным на линии «Белгород» (рисунок 39, приложение 8, 9). Ось 1, вероятно, характеризует соотношение морфометрических параметров крыла в выборках до и после воздействия β -излучением. Ось 2 соответствует изменениям исследуемых параметров в поколениях, во времени, таким образом, обнаруживая наличие пролонгирующего эффекта. И снова в F_1 не наблюдается возвращения

пространственных характеристик крыла к значениям контроля, по обеим главным осям, соответствующим факторам, разделяющим выборки. Таким образом, и в случае линии «Биос-3» обнаруживается наличие пролонгирующего эффекта на уровне морфометрических характеристик крыла (рисунок 45).

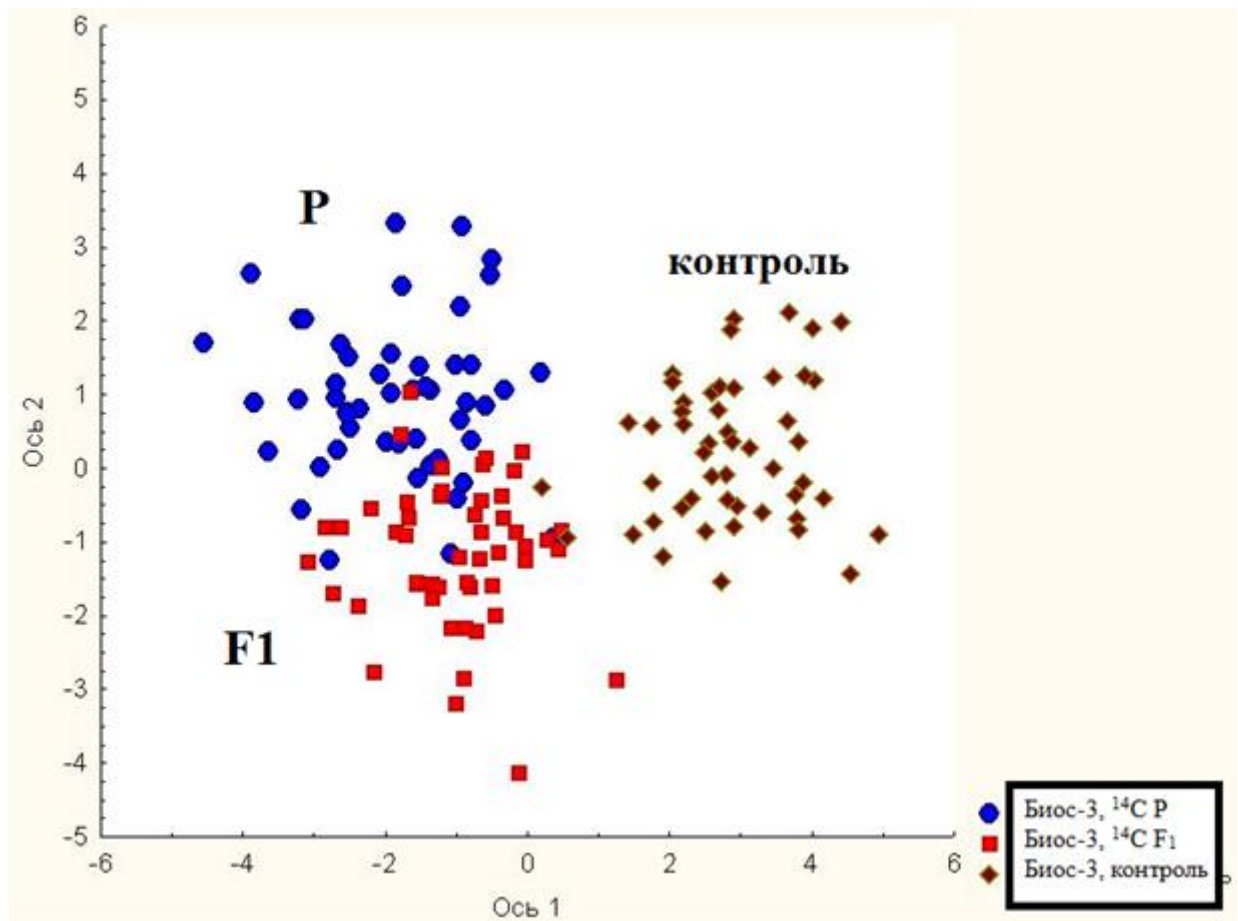


Рис. 45. Канонический анализ морфометрических показателей крыла линии «Биос-3» *D. melanogaster*, полученных в условиях присутствия инкорпорированной метки ^{14}C .

Анализ изменения пространственной структуры крыла в линиях дикого типа «Биос-3» и «Белгород» показал:

- пространственная структура крыла всегда отражает наличие/отсутствие воздействия ионизирующего излучения, независимо типа

излучения (рентген, γ или β) и независимо от дозы (относительно доз, использованных в работе);

- сравнительный анализ морфометрических показателей крыла позволяет определить зону, наиболее подверженную изменениям в результате воздействия ионизирующего излучения;

- поглощенная доза 8,77 Гр как в случае γ -излучения, так и рентгеновского излучения, приводит к самым значительным отличиям соотношений морфометрических параметров крыла, по сравнению с контролем и дозами мощностью 17,54 и 26,31 Гр (показано на двух исследованных линиях дикого типа) (рисунок 2);

- линия дикого типа «Биос-3» обнаруживает большую радиочувствительность, по сравнению с линией «Белгород»;

- у двух экспериментальных линий дикого типа обнаружили наличие пролонгирующего эффекта на уровне морфометрических характеристик крыла в условиях хронического β -облучения.

Также в работе производили подсчет частоты встречаемости рентгенморфозов и хемоморфозов типа «вырезка» на крыле.

Полученные данные демонстрируют следующее (Рисунок 46), что обе линии проявляют сходную тенденцию по частоте встречаемости повреждений в зависимости от дозы и вида излучения. В частоте хемоморфозов типа «вырезка» на крыле после воздействия метотрексатом подобной тенденции не обнаружено: линия «Белгород» проявляет большую чувствительность к факторам химического стресса (метотрексат), чем линия «Биос-3».

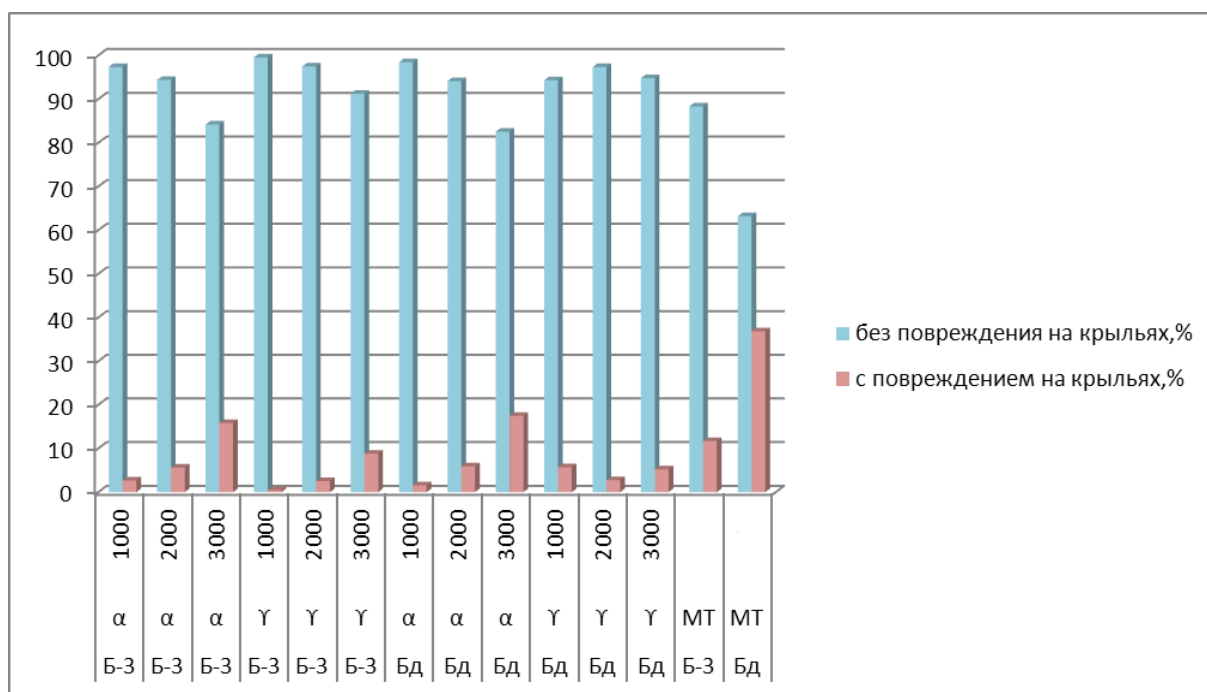


Рис. 46. Частота встречаемости рентгенморфозов и хемоморфозов типа «вырезка» на крыле у линий «Белгород» и «Биос-3» в зависимости от дозы и концентрации.

Влияние цитостатиков также рассматривалось относительно наличия биологического эффекта на уровне соматических клеток. Повреждения крыла типа «вырезка» наблюдаются исключительно при воздействии метотрексата дозой 2 мкг/кг питательной среды. Подобные повреждения возникают и на костальной, и на внутренней, и на внешней латеральной части крыловой пластинки дрозофилы (рисунок 47).

Биологический эффект цитостатических препаратов даже в отсутствии повреждений (при низкой интенсивности апоптоза в крыловом имагинальном диске) можно обнаружить, используя морфометрический анализ линейных и двумерных параметров.

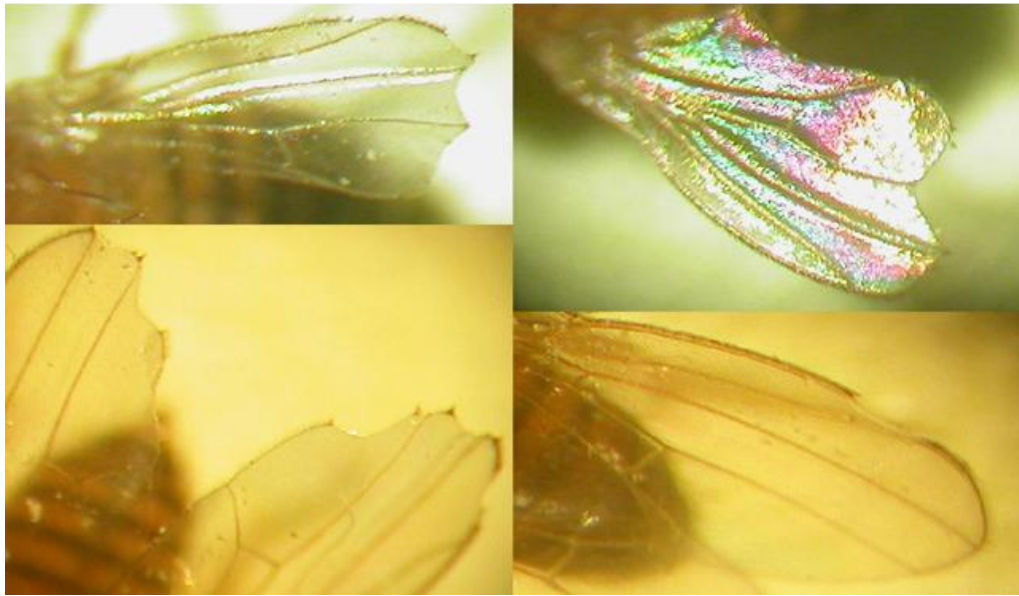


Рис. 47. Различные локализации повреждений (хемоморфозов) типа «вырезка» на крыле в линиях дикого типа *Drosophila melanogaster*, вызванные воздействием метотрексата.

Установили, что у трех линий дикого типа «Биос-3», «Белгород» и дополнительно «Host» при воздействии цитостатических препаратов, которые по-разному воздействуют на генетический материал и обладающих различным биологическим эффектом, двумерные параметры крыловой пластинки (площади ячеек крыла) изменяются во всех экспериментальных группах относительно контроля, несмотря на то, что повреждения типа «вырезка» на крыле встречаются исключительно при воздействии метотрексатом. В свою очередь, анализируя линейные параметры крыловой пластинки, установили, что в линиях «Биос-3» и «Белгород» изменяется в большом количестве параметры, характеризующие как ширину, так и длину крыла. В линии «Биос-3»: АВ, АК, АЕ, LB, AD, КЕ, КВ, КF, IЕ, FC, MN; в линии «Белгород»: АК, АЕ, AI, AD, АМ, АТ, КF, КЕ, IЕ, MN, FC. В линии «Host» изменяются линейные параметры: АЕ, АТ, КЕ, КF, FC, NM, и соответственно, характеризующие ширину крыловой пластинки (рисунок 48-50, приложение 15-17).

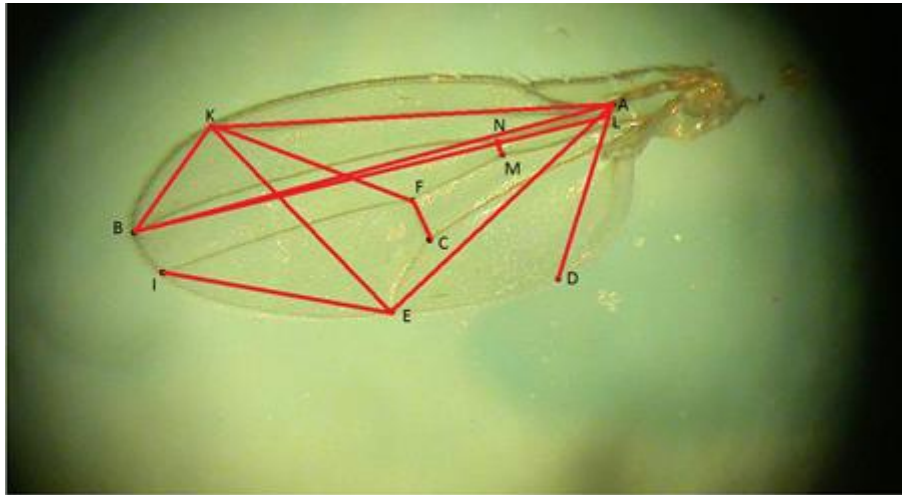


Рис. 48. Линейные параметры крыла, по которым идет разделение выборок при воздействии цитостатиками на особей линии «Биос-3».

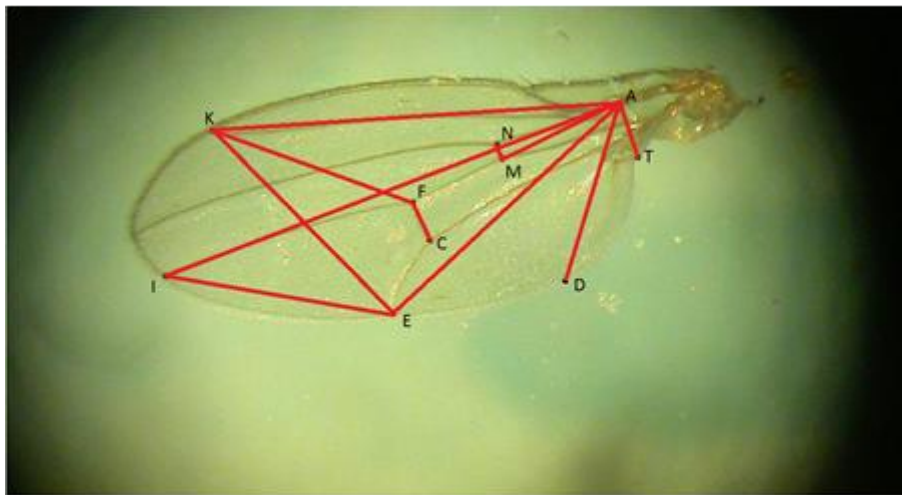


Рис. 49. Линейные параметры крыла, по которым идет разделение выборок при воздействии цитостатиками на особей линии «Белгород».

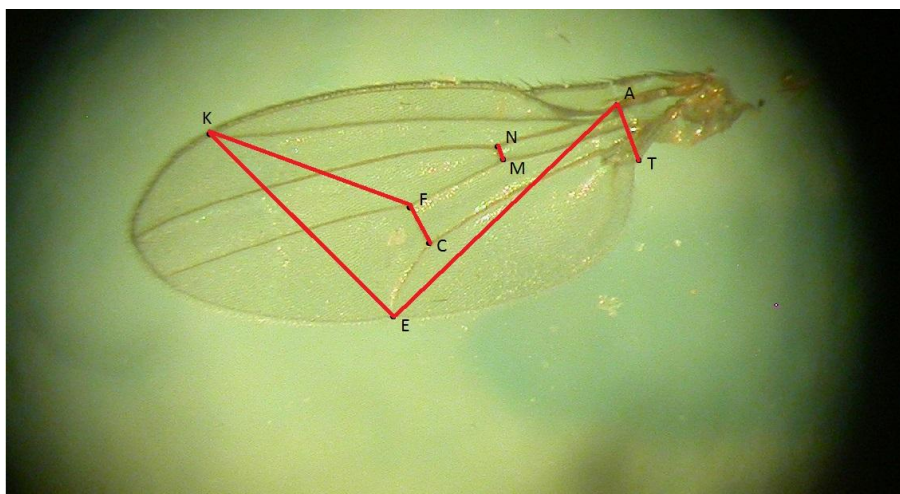


Рис. 50. Линейные параметры крыла, по которым идет разделение выборок при воздействии цитостатиками на особей линии «Host».

В линии «Биос-3» после воздействия гелданамицина в ряду поколений изменяются крыловые параметры, затрагивающие всю поверхность крыловой пластинки, в отношении же тератогенного эффекта, при токсическом воздействии меняются линейные параметры, затрагивающие ширину крыла (приложение 18). В линии «Белгород» в обоих случаях изменения наблюдаются относительно линейных параметров, характеризующих ширину и длину крыла. Изменение же двумерных параметров (площади ячеек) не наблюдали лишь относительно 21 ячейки в обоих случаях, а также относительно очень большой по площади ячейки 26 в случае анализа на уровень тератогенного эффекта (приложение 19). В линии «Host» проводили лишь анализ на уровень пролонгирующего эффекта. Определено изменение линейных параметров ширины крыловой пластинки, а также стабильность ячеек № 21 и № 22, характеризующих внутреннюю часть крыла (рисунок 51-52, приложение 20).

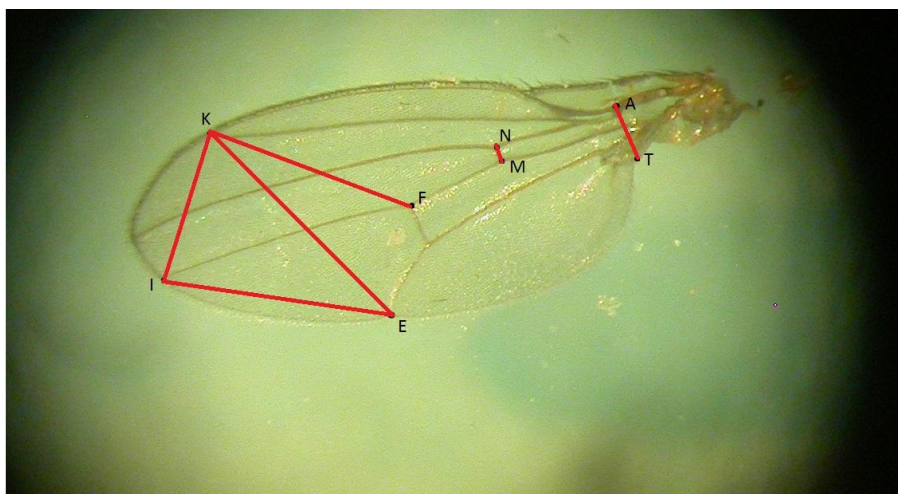


Рис. 51. Линейные параметры крыла, по которым разделяются выборки в ряду поколений после воздействия гелданамицином на особей линии «Host».

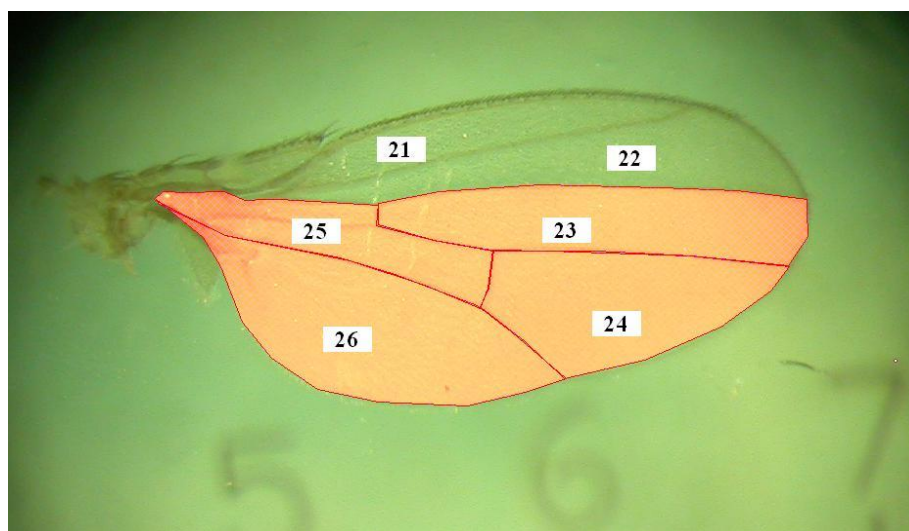


Рис. 52. Двумерные параметры крыла, по которым разделяются выборки в ряду поколений после воздействия гелданамицином на особей линии «Host».

Из исследованной группы противораковых препаратов наибольшим тератогенным эффектом обладали следующие цитостатики: гелданамицин и метотрексат. Влияние метотрексата на соматические клетки имагинального мезоторакального диска во всех трех линиях вызывает изменение крыловых параметров относительно контрольной группы. С помощью морфометрического анализа крыла особей, выращенных на метотрексате,

определили изменение площадей отдельных ячеек крыла во всех трех линиях и изменение линейных параметров, затрагивающих длину и ширину крыла. Таким образом, можно предположить, что метотрексат интенсивнее влияет на процессы формирования крыла, чем остальные, используемые в данной работе цитостатики, в связи, с чем характеризуется наибольшим тератогенным эффектом на соматические клетки крылового диска. Избирательная чувствительность к определенным препаратам у линий: этопозиду или циклофосфану, митомицину-С определяется предположительно линейными различиями, которые базируются, в том числе, на различном количестве транспозонов, в частности *P* и *hobo* элементов, а также различной активностью репарационных систем. Как было показано в работах Georgiev P.G. et al., (1990), ещё в 1990 году митомицин-С введенный в брюшко самцов при помощи инъекций может вызывать у потомства хромосомные перестройки и более высокий уровень мутагенеза. Цитостатик циклофосфан тоже характеризовался ранее, как препарат увеличивающий уровень гибели у дрозофилы. Этопозид посредством ингибирования топоизомеразы II, стимулирует всплеск геномной нестабильности, так как активность транспозонов остается без контроля. Следовательно, полученные нами результаты о различной реакции линий на использованные в работе цитостатики, подтверждают предположение о линейных различиях, а также возможно, различной активности и копийности транспозонов, и об изменении этой активности и копийности после воздействия циклофосфана, этопозиды и митомицина-С. Вероятно, различная чувствительность линий дикого типа к использованным в работе цитостатикам обусловлена уменьшением или увеличением копийности транспозонов уже после первичного воздействия препаратов. Исходя из результатов морфометрического анализа, можно предположить, что циклофосфан и этопозид изменяют как линейные, так и двумерные параметры крыла в определенном направлении (Рисунок 53-55), данный эффект наблюдается во всех 3 линиях. Митомицин-С, гелданамицин и

метотрексат обладают таким эффектом, что изменения параметров крыла происходят по-разному, в том числе, предположительно, за счет различной активности компартментов, а также за счет различной чувствительности к исследованным повреждающим агентам.

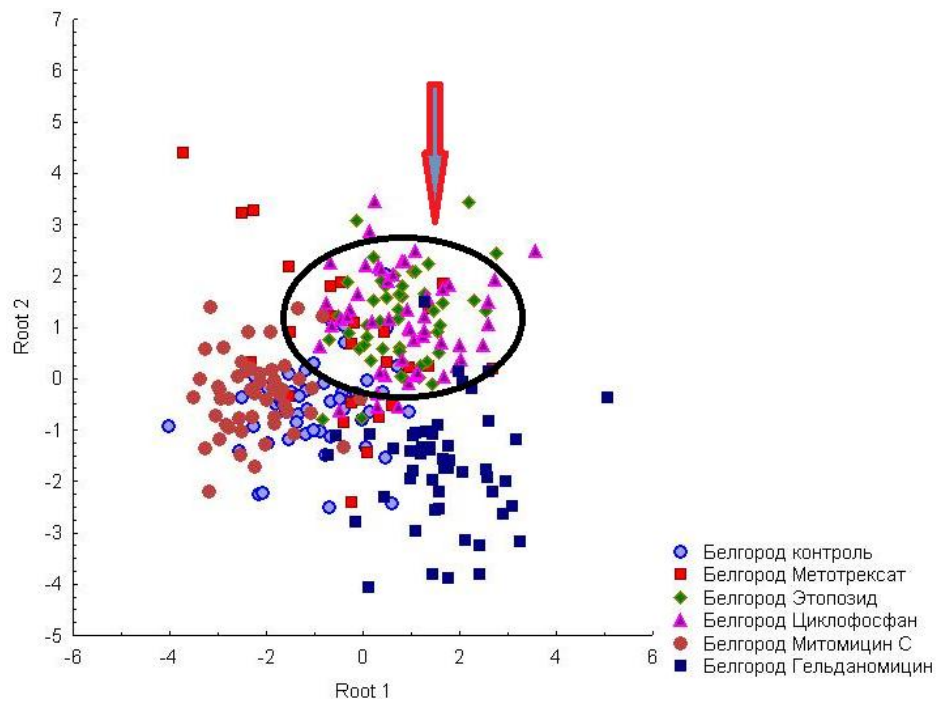


Рис. 53. Канонический анализ линейных морфометрических показателей крыла выборок линии «Белгород» *D. melanogaster*, полученных в условиях присутствия цитостатических препаратов.

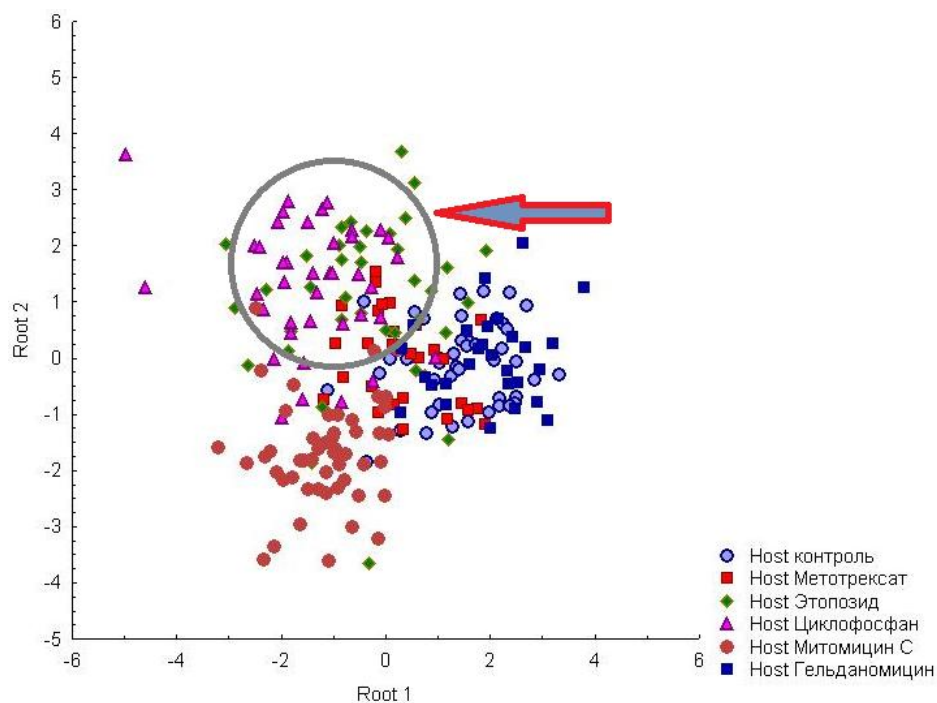


Рис. 54. Канонический анализ линейных морфометрических показателей крыла выборок линии «Host» *D. melanogaster*, полученных в условиях присутствия цитостатических препаратов.

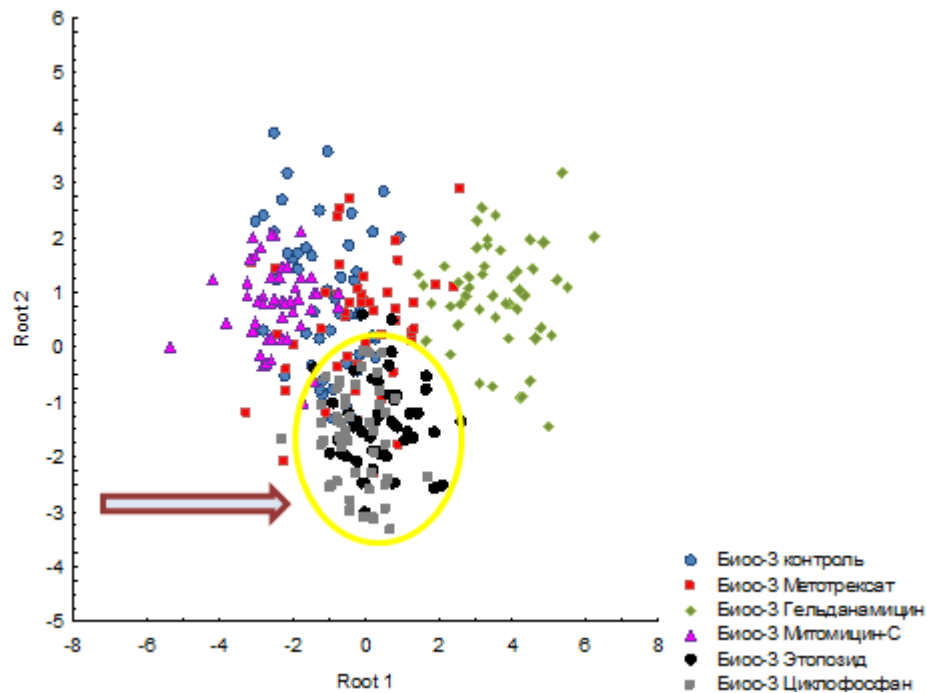


Рис. 55. Канонический анализ линейных морфометрических показателей крыла выборок линии «Биос-3» *D. melanogaster*, полученных в условиях присутствия цитостатических препаратов.

Исследована линия «Host», которая наименее чувствительна ко всем исследуемым в данной работе препаратам в отношении плодовитости и в отношении изменения пространственной формы крыла. Исключением является воздействие на данную линию гелданамицина, вызывающее довольно сильный тератогенный эффект. В работах Specchia V., et al. (2010) проводились исследования по воздействию гелданамицина на дрозофиле, так как известно, что он подавляет активность белка Hsp90, и было зарегистрировано множество аномалий в связи с воздействием данного цитостатика. Авторами высказано предположение о возможном всплеске активности транспозонов из-за ингибирования Hsp90. Исследования на всех линиях, и особенно на линии «Host» подтверждают выдвинутое авторами предположение. Морфометрический анализ крыла вышеуказанных линий установил, что после воздействия гелданамицина параметры крыла у особей изменяются настолько значительно, что после культивирования в течение 3-х поколений на среде без гелданамицина они продолжают отличаться от таковых в контрольной группе (Рисунок 56-57).

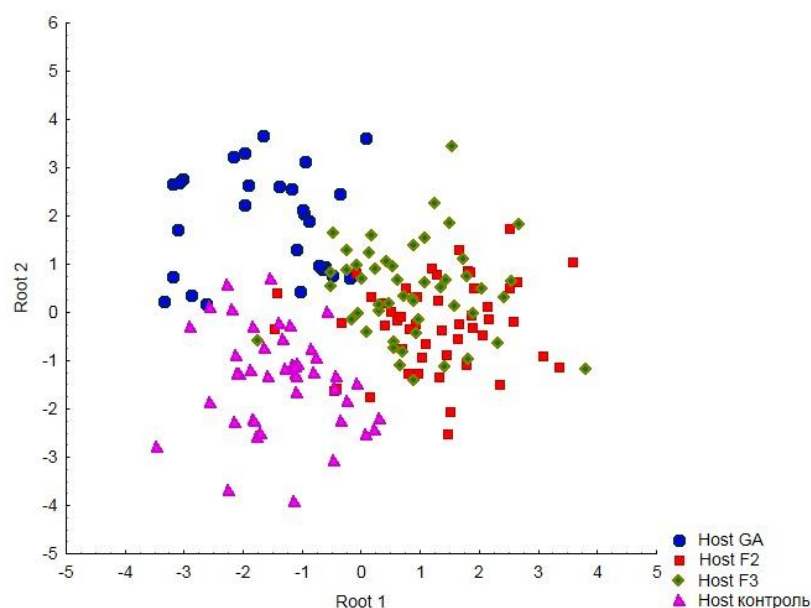


Рис. 56. Канонический анализ линейных морфометрических показателей крыла выборок линии «Host» *D. melanogaster* в ряду поколений, полученных после воздействия гелданамицином.

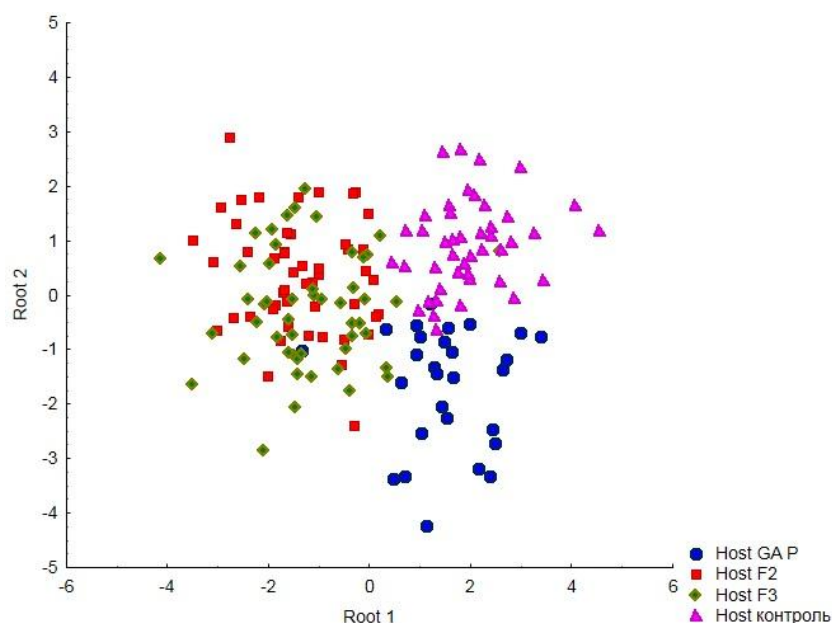


Рис. 57. Канонический анализ линейных морфометрических показателей крыла выборок линии «Host» *D. melanogaster* в ряду поколений, полученных после воздействия гелданамицином.

По-видимому, использование гелданамицина может, в том числе провоцировать всплеск транспозонной активности, который сохраняется в некоторой степени и при последующей селекции на чистой среде в отсутствии фактора воздействия и у последующих поколений. Об этом также предположительно свидетельствует почти 100% смертность особей в линии «Host» в F_1 после воздействия гелданамицина, но на фоне общего генотоксического эффекта не представляется возможным подтвердить данное предположение.

Резюмируя вышесказанное можно отметить следующее:

1. Различная чувствительность к группе цитостатиков, которые используются в работе, свидетельствует о наличии линейных отличий среди особей линий дикого типа.
2. Морфометрический анализ крыла демонстрирует сходство биологического эффекта цитостатиков с отличающимся механизмом действия на клетки среди используемых в работе препаратов.

3. Линейные различия в отношении чувствительности к повреждающим агентам, а также возможная активизация транспозонов на фоне общего генотоксического эффекта могут быть обнаружены в ходе морфометрического анализа.

4. В результате исследований с использованием ряда методов предположили, что наибольшая геномная нестабильность (общий генотоксический эффект) прослеживается на фоне воздействия гелданамицина и метотрексата.

3.3. Сравнительный анализ результатов длительной направленной селекции на частоту повреждения крыла в линиях дикого типа в присутствии метотрексата и гибридных линиях гетерозиготных по *vestigial*

Частота встречаемости повреждений типа «вырезка» на крыле колеблется в ходе направленной селекции в присутствии метотрексата. В линии «Биос-3» частота встречаемости повреждений максимальна лишь в самом начале эксперимента, после чего она стабилизировалась и держалась практически на одном уровне. У линии «Host» частота встречаемости повреждений, наблюдаемая в ходе отбора, всегда была выше, чем в линиях «Биос-3» и «Белгород». В линии «Белгород» частота повреждений крыла типа «вырезка» максимального значения достигла незадолго до гибели всех особей в данной линии в ходе направленной селекции.

В работе проведен анализ жизнеспособности, и изменение пространственной структуры крыла у линий дикого типа, изменяющиеся при воздействии метотрексатом, усиливающим апоптоз и воздействием генотипической среды, в присутствии мутантной аллели *vestigial*, также усиливающей апоптоз.

Исходное наличие транспозонов в используемых линиях определялось при помощи флуоресцентной гибридизации *in situ*. Было показано наличие как *hobo*, так и *P* элемента во всех 4 хромосомах. Использовали линию «Биос-3» и «Host». В связи с гетерогенностью линий на препаратах наблюдается расконъюгация гомологов, а также локализация транспозонов в различных местах (Рисунок 58).

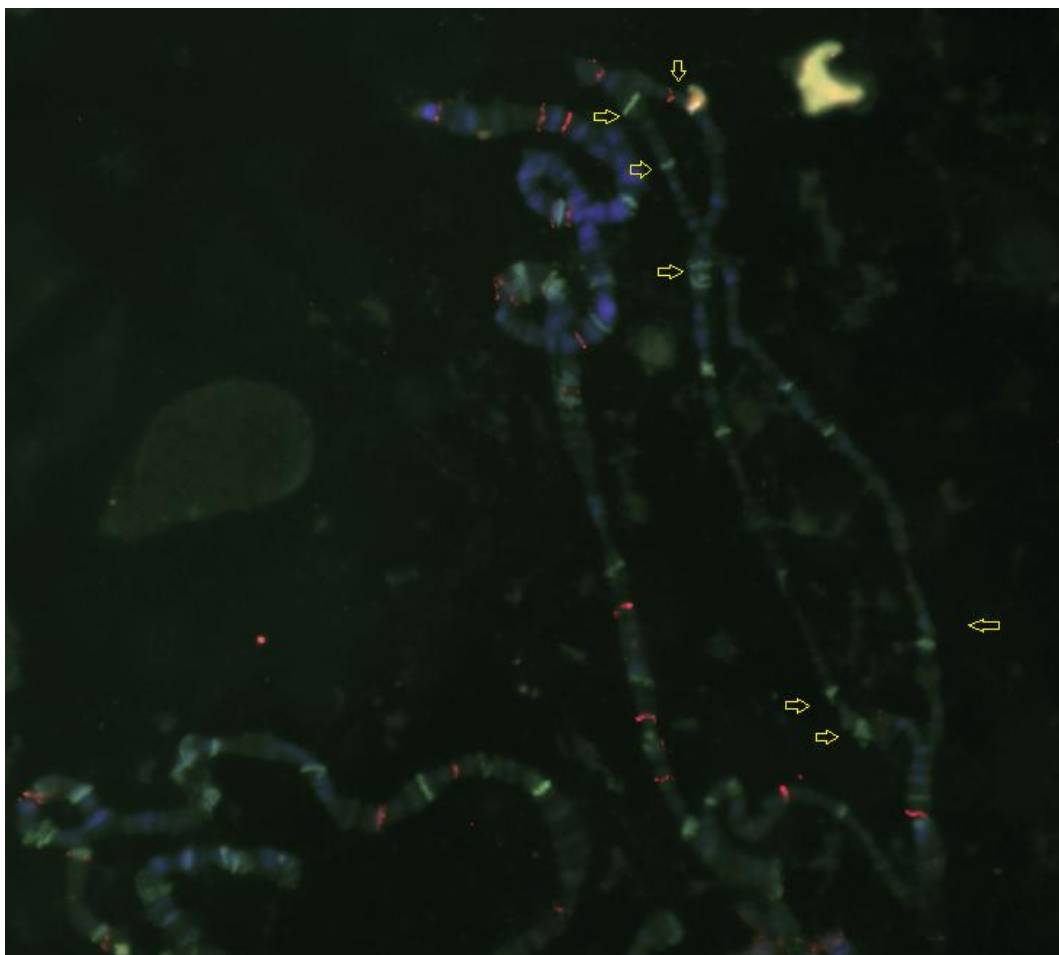


Рис. 58. Препарат слюнных желез личинок линии «Биос-3». Показана разница в расположении *P* (красный) и *hobo* – элементов (зеленый) при расконъюгации гомологов.

Но также имеются транспозоны, локализацию которых удастся определить, например, в линии «Биос-3» в X-хромосоме заметно расположение в начале трех *P* – элементов, затем три *hobo* – элемента, средний из которых упакован между двумя *P* (Рисунок 59). Соответственно, данные линии можно впоследствии использовать для анализа геномной нестабильности в меняющихся условиях среды.

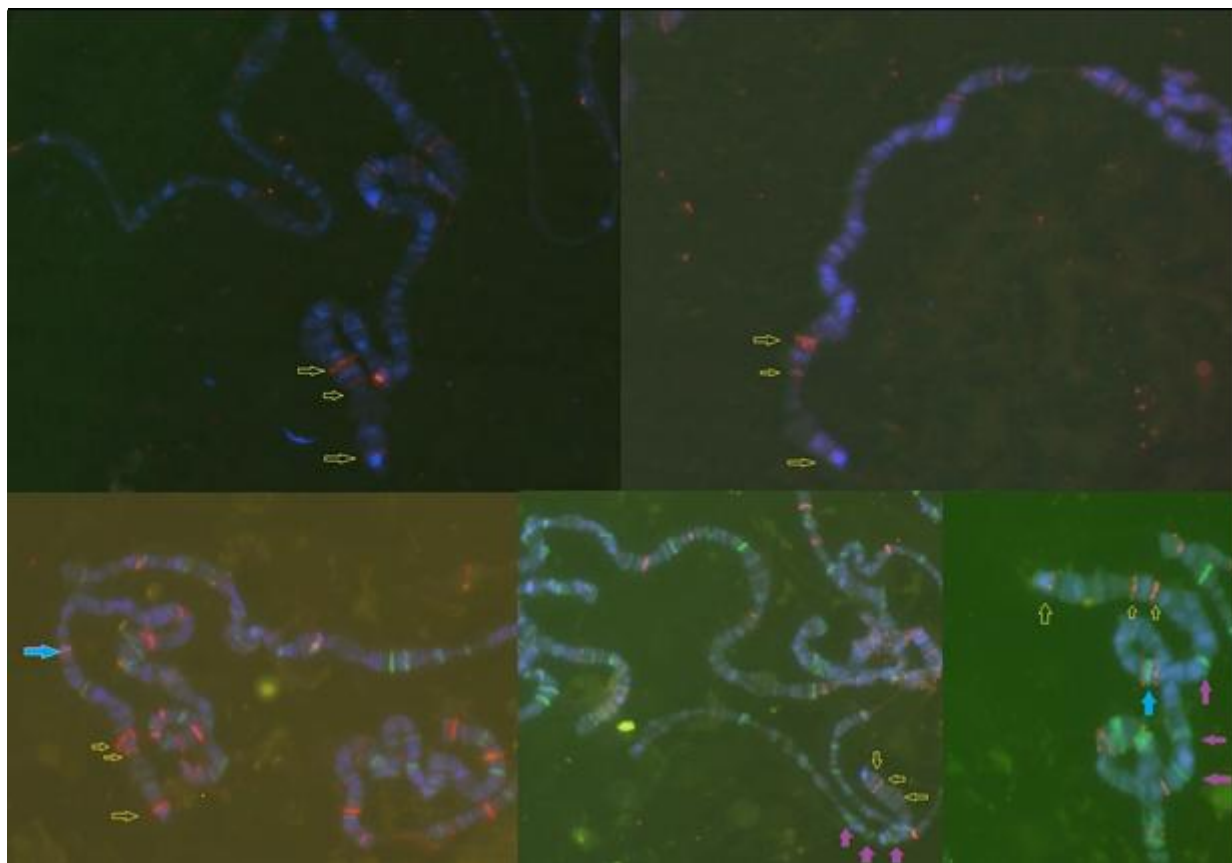


Рис. 59. Препарат слюнных желез личинок линии «Биос-3». Локализация Р-элемента (красный) показана желтыми стрелками, локализация *hobo* – элемента (зеленый) показана сиреневыми стрелками, «сэндвич» из *P* и *hobo* показан голубыми стрелками.

Что касается линии «Host», то можно наблюдать в начале X-хромосомы чередование *hobo-P-hobo-P-hobo-hobo-hobo-hobo*.

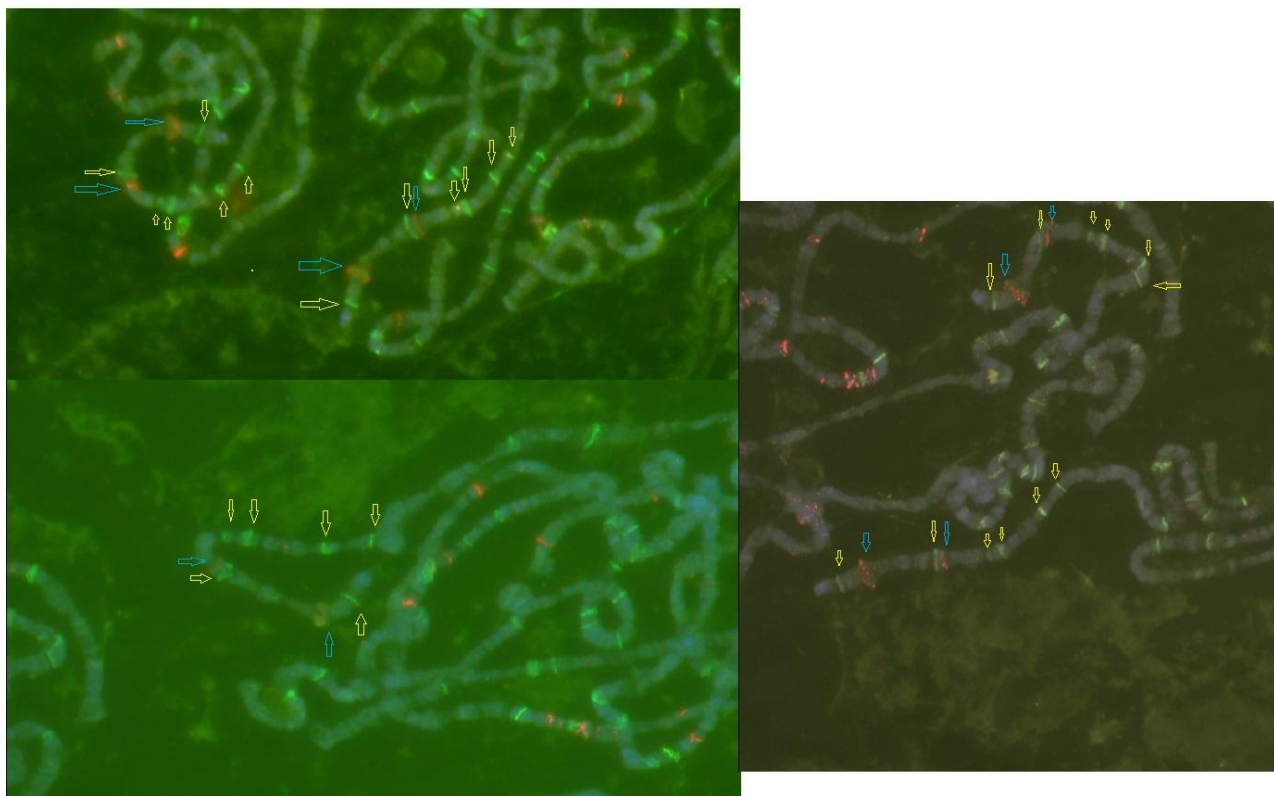


Рис. 60. Препарат слюнных желез личинок линии «Host». Локализация *P*-элемента (красный) показана голубыми стрелками, локализация *hobo* – элемента (зеленый) показана желтыми стрелками.

Подтверждение присутствия транспозонов *hobo* и *P* в используемых в работе линиях послужило для использования этих линий в дальнейших исследованиях, посвященных длительной направленной селекции на повреждение крыла типа «вырезка», наличие которой является одним из показателей генотоксического и тератогенного эффекта при воздействии метотрексата. Данный показатель применялся на трех линиях дикого типа «Биос-3», «Белгород» и «Host». Направленная селекция на повреждение крыла формирует адаптацию к такому лекарственному препарату как метотрексат, т.к. в ходе длительного отбора частота встречаемости вырезов уменьшается. Наибольшая частота встречаемости повреждений типа

«вырезка» на крыле наблюдается в течение всего отбора в линии Host F₅₄, она достигает 80,7%.

Изменение чувствительности к метотрексату, и соответственно общий токсический эффект совместно с возможным изменением активности мобильных генетических элементов как в ходе длительного отбора при воздействии факторов стресса, так и при единичном воздействии, косвенно демонстрирует морфометрический анализ крыла. Данный анализ использовали для обнаружения различий в линейных параметрах и площадях крыловых ячеек особей после воздействия метотрексатом дозой 2 мкг/кг, а также метотрексатом на протяжении нескольких десятков поколений. Результаты, полученные в исследованиях, посвященных длительному отбору линий дикого типа «Биос-3», «Белгород» и «Host» на среде с метотрексатом, свидетельствуют о различной чувствительности линий к такому фактору стресса как цитостатик-метотрексат (таблица 7). В линии «Биос-3» изменяются линейные параметры крыла, характеризующие ширину крыловой пластинки (рисунок 61, приложение 19), в то время как в линии «Host» меняются как параметры, характеризующие ширину крыла, так и параметр АК, отвечающий за длину верхней части крыловой пластинки, наиболее часто подвергающейся усиленному апоптозу, поскольку действие метотрексата распространяется на S-фазу клеточного цикла (Рисунок 62) [Martin F.A. et al., 2009].

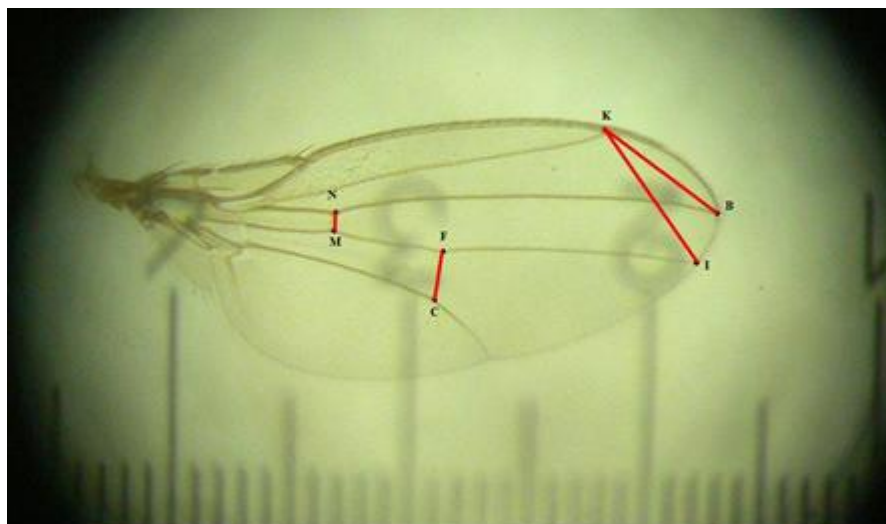


Рис. 61. Схема линейных параметров морфометрического анализа крыла линии «Биос-3», изменяющихся при воздействии длительной направленной селекции на метотрексате относительно контрольной группы и родительского поколения (Р), выращенном на метотрексате.

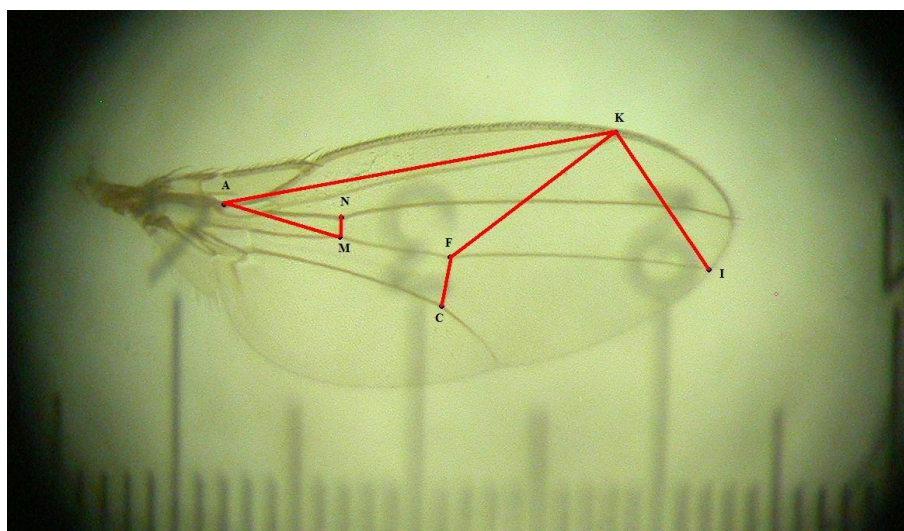


Рис. 62. Схема линейных параметров морфометрического анализа крыла линии «Ност», изменяющихся при воздействии длительной направленной селекции на метотрексате относительно контрольной группы и родительского поколения (Р), выращенном на метотрексате.

В линиях «Биос-3» и «Host» после длительной направленной селекции все площади ячеей крыла изменяются относительно контрольной группы и поколения, впервые выращенного на метотрексате.

Несколько иную картину можно выявить у особей, подвергшихся длительному отбору на метотрексате, в линии «Белгород» (рисунок 63-64, приложение 21). Изменению не подвергаются такие значительные по размеру ячейки крыла, как 24 и 26, составляющие практически 50% крыловой пластинки. Таким образом, с учетом различий линейных параметров АМ, КВ и FC можно предположить, что изменению подлежат лишь параметры верхней части крыловой пластины. Соответственно, на стресс реагируют определенные компартменты, из которых, в ходе развития, развивается крыловая пластинка с измененными параметрами крыла.

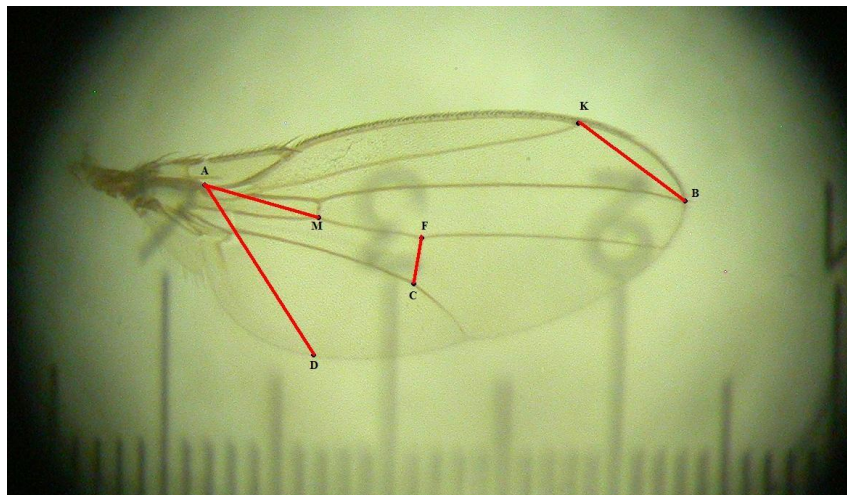


Рис. 63. Схема линейных параметров морфометрического анализа крыла линии «Белгород», изменяющихся при воздействии длительной направленной селекции на метотрексате относительно контрольной группы и родительского поколения (Р), выращенном на метотрексате.

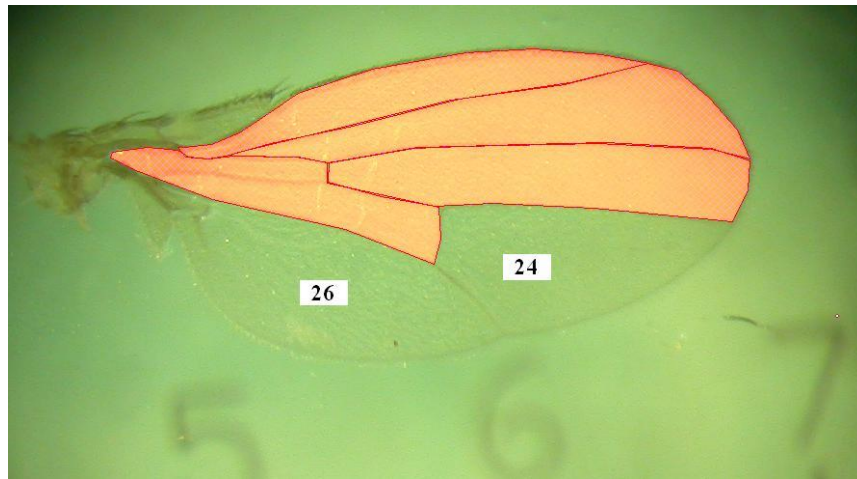


Рис. 64. Схема двумерных параметров морфометрического анализа крыла линии «Белгород», изменяющихся при воздействии длительной направленной селекции на метотрексате относительно контрольной группы и родительского поколения (Р), выращенном на метотрексате.

Таким образом, на основании результатов, полученных в ходе дискриминантного анализа морфометрических показателей крыла, можно говорить о том, что линия дикого типа «Белгород» отличается от линий дикого типа «Биос-3» и «Host» в отношении уровня онтогенетической и генотипической адаптации при воздействии факторов стресса. Как отображено в таблице 8 (относительно гена *scalloped*) копийность *hobo* и *hobo*-подобных элементов после первичного воздействия метотрексатом у трех линий дикого типа уменьшается, но впоследствии в ходе длительной направленной селекции линейные различия становятся более выраженными, так как количество *hobo* и *hobo* – подобных элементов изменяется в линиях по-разному. Возможно, полученные различия могут быть связаны с тем, что использованный в работе метод не позволяет полноценно интерпретировать копийность, и для получения более точной информации по копийности возможно применение дополнительных методов ПЦР.

Полученные нами результаты свидетельствуют о влиянии метотрексата как на генеративные, так и на соматические клетки у *Drosophila melanogaster*.

Как известно из литературных данных Kislukhin G. et al., (2013) при влиянии внешних стрессовых факторов, в первую очередь, воздействию фактора стресса подвергаются именно генеративные клетки, вплоть до полной стерилизации особи. Влияние же на соматические клетки (в том числе, и дорзально-мезоторакального диска) долгое время оспаривалось, но теперь получен ряд данных, свидетельствующих в пользу предположения о том, что соматические клетки также подвергнуты влиянию стресса, как и генеративные клетки [Коваленко Л.В. и др., 2006]. Полученные нами результаты свидетельствуют о наличии генотоксического и тератогенного эффекта во все линиях, подвергшихся различному виду стресса, как физической, так и химической природы, который был определен по ряду косвенных показателей, указанных выше. Анализ генотоксического и тератогенного эффектов с использованием косвенных методов показал линейные различия особей дикого типа при воздействии метотрексата в ряду поколений и позволил классифицировать линии, как устойчивые и чувствительные к фактору химического стресса. Как нами уже было установлено, ряд линий при воздействии метотрексатом характеризовался различной степенью чувствительности, что помогло отобрать линии, которые обладают высокой, низкой и средней степенью чувствительности. Генотоксический и тератогенный эффекты, наблюдаемые в данном исследовании, могут повлечь изменение геномной стабильности, но выявить ее на фоне общего токсического эффекта не представляется возможным, если использовать только косвенные методы оценки. Известно, что именно *hobo*-элемент наиболее распространен и активен в линиях дикого типа, отловленных в природе, что демонстрируется в ряде работ на линии Умань, наличие и активность *hobo* и *P* элементов в которой определяется с использованием как ПЦР, так и флуоресцентной гибридизации *in situ* [Захаренко Л.П. и др., 2007]. Также в ряде других работ, проведенных как на особях дикого типа, так и на мутантных лабораторных линиях, показана активная роль транспозонов в формировании адаптации [Mahendra P.S. et al.,

2011; Sheen F. et al., 1993]. Одним из важнейших различий линий, используемых в данном исследовании, является их устойчивость и чувствительность к различным по своей природе факторам стресса. Являясь радиоустойчивой в экспериментах с облучением γ -лучами, линия «Host» оказывается чувствительной к такому препарату, как метотрексат. В свою очередь, линия «Биос-3» является чувствительной к облучению, но устойчивой к метотрексату, а линия «Белгород» демонстрирует противоположные свойства. Анализ линий дикого типа при воздействии γ -облучения и воздействии метотрексатом показал, что воздействие радиации вызывает значительный биологический эффект на генеративные и соматические клетки. Это может служить косвенным доказательством активизации мобильных генетических элементов на фоне общего токсического эффекта. Результаты, полученные в ходе эксперимента, направленном на воздействие метотрексата в течение длительной направленной селекции на усиление апоптоза в крыле, также позволяет сделать, хотя и косвенный, вывод о возможной активизации мобильных генетических элементов. Исключением может служить лишь линия дикого типа «Белгород», в ходе отбора у которой незначительно видоизменяется по соотношению параметров крыловая пластина, что, вероятно, может свидетельствовать о малой активизации мобильных генетических элементов, либо даже их дезактивизации. Молекулярно-генетический анализ копийности hobo-элемента подтвердил уменьшение количества hobo и hobo-подобных элементов в линии «Белгород», что можно объяснить возможностью эксцизии транспозонов [Atkinson P.W. et al., 1993].

Таблица 7.

Средние значения пороговых циклов в ПЦР с праймерами к последовательностям *scalloped* и *hobo* на ДНК в экспериментальных группах дрозофилы.

Показатель Генотип	C ₀ t среднее (hobo*)	среднее (sd)	□ C ₀ t
Host P	22,9 ± 0,03	34,2 ± 1,78	11 ± 1,8
Host F ₆₀	16,4 ± 0,45	35,4 ± 0,74	19 ± 1,2
Host-Контроль	17,2 ± 0,08	34,5 ± 1,32	17,3±1,4
Белгород P	21,5 ± 0,18	38 ± 0,47	17 ± 0,7
Белгород F ₇₂	22,1 ± 0,06	34,6 ± 1,9	13 ± 2
Белгород-Контроль	16 ± 0,06	37,2 ± 0,51	21 ± 0,6
Биос-3 P	19,2 ± 0,07	38 ± 0,47	19 ± 0,5
Биос-3 F ₇₆	15,3± 0,06	38,5 ± 1,17	23 ± 1,2
Биос-3-Контроль	14,9 ± 0,11	34 ± 1,88	19 ± 2

Исходя из полученных данных, можно оценить количество копий *hobo* и *hobo*-подобных элементов в относительных единицах. Предварительно, можно предположить тенденцию изменения относительного количества копий *hobo* и *hobo*-подобных элементов (таблица 7). Опираясь на увеличение □C₀t, полученные в нескольких повторах для каждого эксперимента, а также в идентичных условиях проведения реакции линия «Host» после длительной направленной селекции относительно контрольной выборки и выборки после первичного воздействия метотрексатом может быть охарактеризована повышением количества *hobo* и *hobo*-подобных элементов. В линии «Биос-3» усиление активности мобильных генетических элементов более выражено после длительной направленной селекции в присутствии метотрексата, т.к. величина □C₀t достигает 23 ± 1,2 по отношению с контролем и выборкой

после первичного воздействия. В линия «Белгород» наблюдается дезактивация *hobo*, т.к. снижается $\square C_0t$ по сравнению с контролем почти в 2 раза. В задачи данного исследования не входил количественный анализ и молекулярно-генетические механизмы, связанные с изменением копийности МГЭ.

Количественные результаты приводятся в таблице 8 и подтверждают предполагаемую тенденцию, выведенную по относительным величинам пороговых циклов. Но результаты требуют дальнейшего анализа, так как полученные величины могут быть связаны с накоплением нехромосомных копий МГЭ, неравной эффективностью ПЦР-реакции.

Таблица 8.

Количество копий *hobo* и *hobo*-подобных элементов у исследованных генотипов дрозофилы

генотип	количество	генотип	количество	генотип	количество
Host K	165140 \pm 2,49	Белг К	2431362 \pm 1,42	Биос-3 К	554182 \pm 3,68
Host F ₁	2568 \pm 3,43	Белг Р	94629 \pm 1,38	Биос-3Р	441892 \pm 1,38
Host F ₆₀	536543 \pm 1,67	Белг F ₇₂	6039 \pm 3,73	Биос F ₇₅	9200835 \pm 2,25

Таким образом, две линии дрозофилы характеризуются увеличением количества *hobo* элементов при инбридинге, а одна линия имеет обратную тенденцию, что можно объяснить возможностью эксцизии транспозонов [Atkinson P.W. et al., 1993]. Для более информативного установления копийности возможно использование дополнительных методов ПЦР.

Последующая селекция привела к тому, что особи данной линии откладывали единичные яйца, практически не развивающиеся либо неоплодотворенные, что в последствие привело к гибели линии, достигшей 74 поколения отбора. Высокая частота встречаемости повреждений типа «вырезка» на крыле, наблюдаемая в течение последних нескольких поколений и соответствующая направленная селекция на повреждение

крыла, привели к тому, что были отобраны особи с высокой степенью апоптоза и возможно, крайне низким количеством копий *hobo*-элементов, и соответственно, с низким уровнем изменчивости и жизнеспособности, что в условиях стресса могло спровоцировать гибель особей.

Таким образом, длительная направленная селекция особей с повреждениями типа «вырезка» на крыле в условиях постоянного стресса по-разному влияет на линии дикого типа. Различная чувствительность к факторам стресса на уровне соматических клеток в различных линиях наблюдается за счет того, какой из компартментов и в какой степени корректирует последствия клеточной гибели в имагинальном крыловом диске. Немаловажным является исходное количество копий *hobo* и *hobo*-подобных элементов, а также направление отбора. Направленный отбор в условиях стресса может привести к сильной активации транспозонов, и, соответственно, к более высокой изменчивости особей внутри линии за счет большей геномной нестабильности. Дезактивация же транспозонов благодаря механизмам эксцизии, либо за счет других механизмов, приводит, в свою очередь, к очень низкой изменчивости, которая в условиях стресса может приводить к гибели особей.

Результаты длительной направленной селекции на метотрексате сравнили с результатами исследований гетерозигот, полученных с использованием линии, характеризующейся рецессивной морфологической мутацией *vestigial* (*vg*, II: 57,0 сМ), выделенной в 1912 году. Мутация *vg* относится к группе аутосомно-рецессивных признаков и при скрещивании мутантной линии *vg* с линией длиннокрылых особей фенотипически практически не проявляется, отличаясь только по размеру. Но в 70-е годы во Франции была осуществлена серия реципрокных скрещиваний мутантной линии *vg* с 18 линиями дикого типа, отловленных в природе [Goux J.M., Paillard M., 1976]. В ходе этих экспериментов было обнаружено, что в отдельных скрещиваниях уже в F₁ дистальная часть крыла гетерозиготных мух обнаруживала дефекты в виде «вырезов» на крыле. Частота появления

повреждения крыла у гетерозиготных особей vg^{+}/vg , в зависимости от линии дикого типа, изменялась в пределах от 0,2 до 74,4% [Goux J.M., 1973; Riedel H., 1934]. Вероятно, некоторые линии дикого типа характеризуются значительными нарушениями на биохимическом уровне, и в первую очередь, на уровне синтеза ДНК, а также различаются количеством фермента дигидрофолатредуктазы. Высокая экспрессия vg способна активировать экспрессию дигидрофолатредуктазы в крыловом диске, которая необходима для репликации ДНК у млекопитающих. Таким образом, vg является критической составляющей для пролиферации и выживания клеток в крыловом диске, что приводит к формированию характерных черт крыла, влияя на экспрессию ключевых генов, которые контролируют путь развития, также vg необходим для нормальной экспрессии регуляторов апоптоза клеток в презумптивной области края крыла. Известно, что в ходе нормального развития крылового диска продукты генов *scalloped* (*sd*, X:1-51,5 сМ) и *vestigial* действуют совместно для обеспечения процессов формирования крыла.

Было выбрано четыре линии и произведено скрещивание с особями vg . Полученные гибриды отбирали на наличие повреждения типа «вырезка» на обоих крыльях.

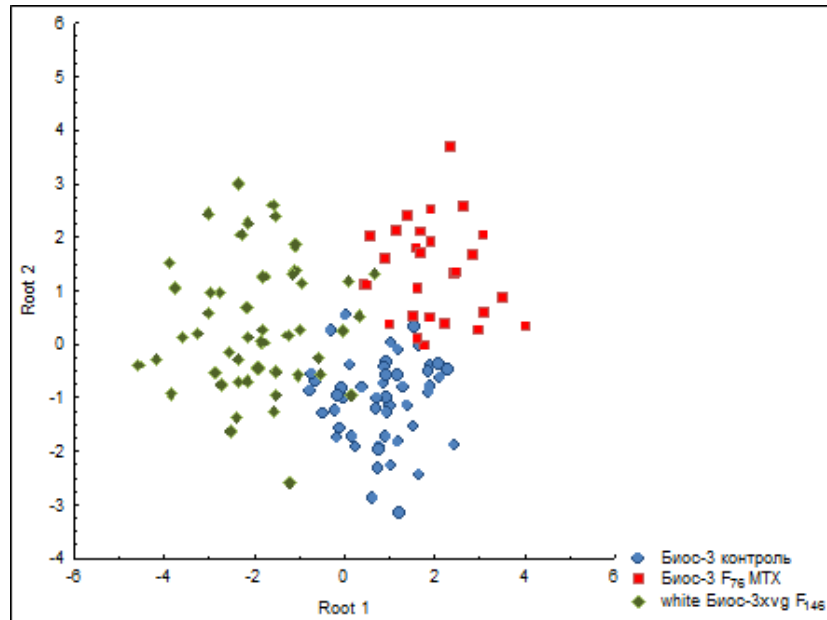


Рис. 64. Канонический анализ линейных параметров крыла особей линии «Биос-3» с вырезками на обоих крыльях, претерпевших длительную направленную селекцию в присутствии метотрексата и в результате скрещивания с мутантной линией *vestigial*.

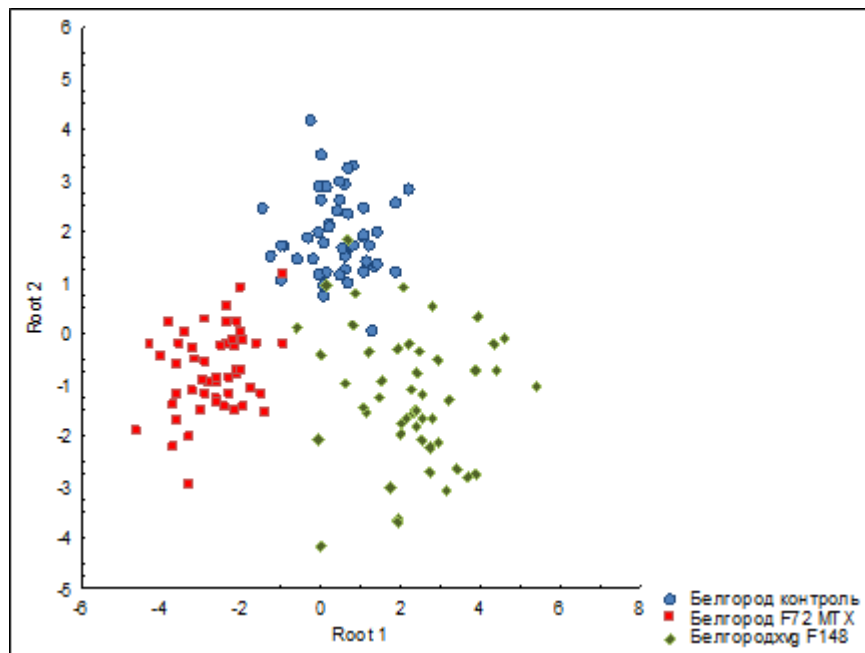


Рис. 65. Канонический анализ линейных параметров крыла особей линии «Белгород» с вырезками на обоих крыльях, претерпевших длительную направленную селекцию в присутствии метотрексата и в результате скрещивания с мутантной линией *vestigial*.

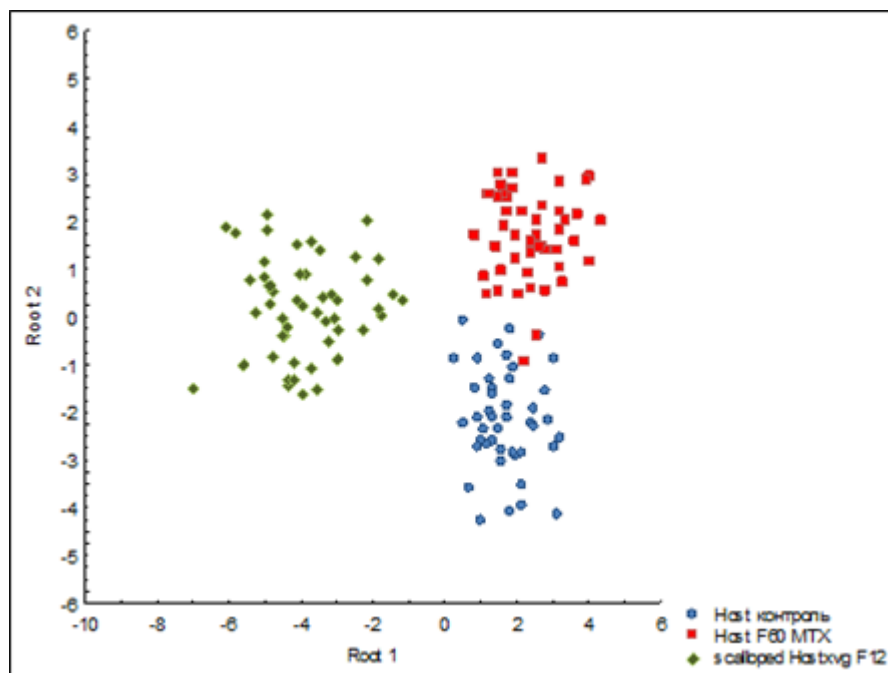


Рис. 66. Канонический анализ линейных параметров крыла особей линии «Host» с вырезками на обоих крыльях, претерпевших длительную направленную селекцию в присутствии метотрексата и в результате скрещивания с мутантной линией *vestigial*.

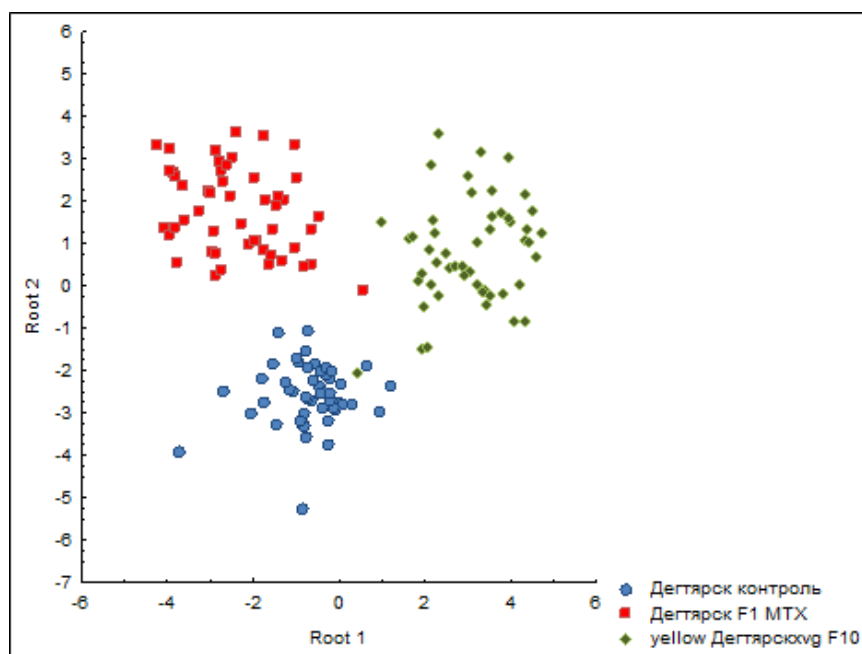


Рис. 67. Канонический анализ линейных параметров крыла особей линии «Дегтярск» с вырезками на обоих крыльях, претерпевших длительную направленную селекцию в присутствии метотрексата и в результате скрещивания с мутантной линией *vestigial*.

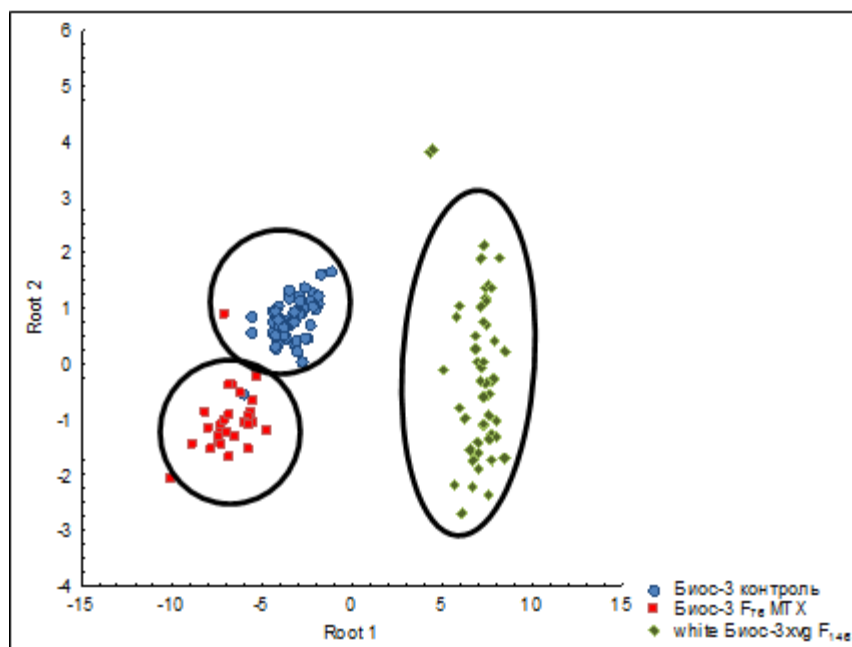


Рис. 68. Канонический анализ двумерных параметров крыла особей линии «Биос-3» с вырезками на обоих крыльях, претерпевших длительную направленную селекцию в присутствии метотрексата и в результате скрещивания с мутантной линией *vestigial*.

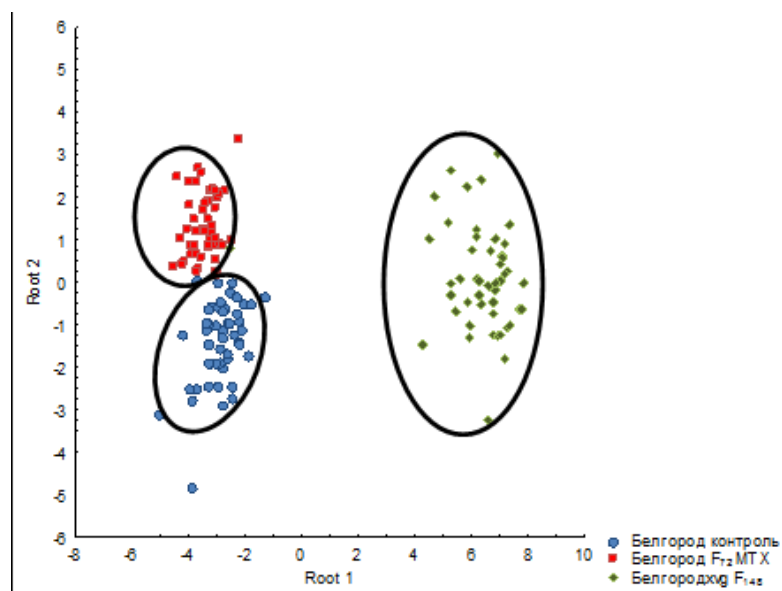


Рис. 69. Канонический анализ двумерных параметров крыла особей линии «Белгород» с вырезками на обоих крыльях, претерпевших длительную направленную селекцию в присутствии метотрексата и в результате скрещивания с мутантной линией *vestigial*.

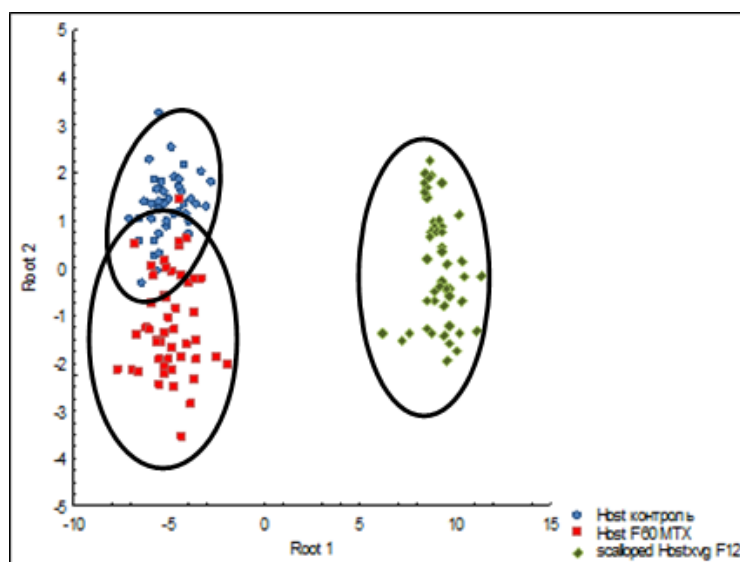


Рис. 70. Канонический анализ двумерных параметров крыла особей линии «Host» с вырезками на обоих крыльях, претерпевших длительную направленную селекцию в присутствии метотрексата и в результате скрещивания с мутантной линией *vestigial*.

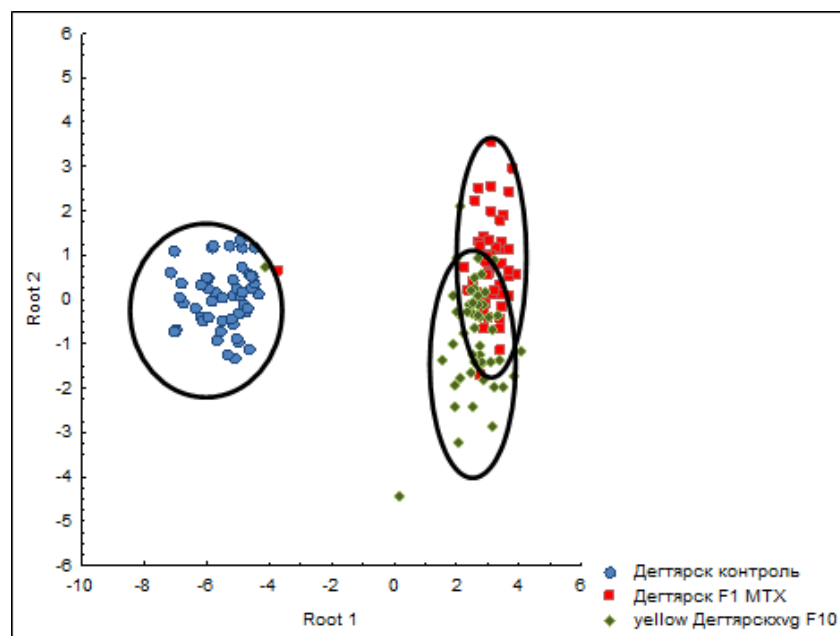


Рис. 71. Канонический анализ двумерных параметров крыла особей линии «Дегтярск» с вырезками на обоих крыльях, претерпевших длительную направленную селекцию в присутствии метотрексата и в результате скрещивания с мутантной линией *vestigial*.

Направленный отбор на повреждение крыла типа «вырезка» привел к появлению мутаций в трех линиях из четырех. Индуцированный мутагенез наблюдался в линиях «Биос-3×vg», «Host×vg» и «vg×Дегтярск». В линии «Белгород×vg» за 148 поколений отбора не обнаружено явления возникновения мутаций. В линии «Биос-3×vg» обнаружена в F₅₀ мутация *white*, характеризующаяся отсутствием пигмента в глазах дрозофилы. В линии «Host×vg» обнаружен фенотип *scalloped*, проявляющаяся в зазубренном крае крыла у дрозофилы. И в линии «vg×Дегтярск» обнаружена мутация *yellow*, и определяемая как желтое тело у дрозофилы. Последние 2 мутации возникли еще до 20 поколения направленного отбора, т.е. на начальных этапах селекционного процесса (Рисунок 72).

С помощью морфометрического анализа крыла установили, что при длительной направленной селекции различия в крыловых параметрах становятся более выраженными с ходом отбора. В экспериментах с линиями «Дегтярск» и «Host» экспериментальные выборки отчасти перекрываются. Что связано, как мы предполагаем, с малой продолжительностью отбора

гибридных особей. В линиях «Биос-3» и «Белгород» различия более явные и выборки не перекрываются, ведь отбор в этих линиях ведется почти 150 поколений (рисунок 64-71, приложение 22).



Рис. 72. Фенотипы особей, гетерозиготных по *vestigial* после длительной направленной селекции: *yellow* ($vg \times$ Дегтярск) (вверху слева), *white* (Биос-3 \times vg) (вверху справа), Белгород \times vg (внизу слева), *scalloped* (Host \times vg) (внизу справа).

Заключение

Геномная нестабильность – явление, которое сказывается на многих физиологических, биохимических и генетических процессах в организме. Таким образом, представляет интерес фиксирования наличия нестабильности генома с использованием ряда прямых, а также косвенных методов. Таким образом, определение фертильности, частоты эмбриональной доминантной гибели потомства, повышение уровня апоптоза клеток имагинального крылового диска в ходе морфогенеза крыла может отображать процесс нестабильности генома. Воздействие факторов стресса антропогенной природы имеет большое значение в решении эколого-эволюционных проблем. Противораковые препараты, которые, как известно, обладают высокой токсичностью, а также радиационное воздействие являются подходящими для подобного рода исследований. Обнаруженные нами линейные различия помогают смоделировать действие факторов стресса на природные популяции. Большая чувствительность одних особей по отношению к определенным факторам стресса и одновременно большая устойчивость по отношению к другим факторам может определяться, в том числе и активизацией мобильных генетических элементов, а также изменением их копийности в ту или иную сторону. Длительная направленная селекция в присутствии метотрексата привела к подобному результату: в линиях «Биос-3» и «Host» копийность *hobo* – элемента возросла многократно, а в линии «Белгород» уменьшилась, возможно, в результате эксцизии. Связано ли различие в результатах длительной направленной селекции с локализацией *hobo* или *P* элемента предстоит ещё выяснить, но уже сейчас можно предположить, что вероятность этого велика. Т.к. в экспериментах, посвященных длительной направленной селекции на повреждение крыла типа «вырезка» с использованием гибридов «дикий тип × *vestigial*» либо «*vestigial* × дикий тип» был получен ряд мутантных фенотипов, а именно: *white*, *yellow* и *scalloped*. В гибридной линии «Белгород

× *vestigial*» не получено ни одной мутации в ходе отбора. Как известно происхождение трех вышеперечисленных мутаций связывают часто именно с деятельностью мобильных генетических элементов. В дальнейших исследованиях планируется установить локализацию транспозонов P и hobo в полученных гибридных линиях, особенно в районах генах *white*, *yellow*, *scalloped*. Более детальное изучение процессов, участвующих в формировании адаптации к факторам стресса, либо мутагенеза поможет в решении ряда фундаментальных эколого-эволюционных и генетических проблем.

Выводы.

1. В результате проведенного анализа наследственной изменчивости в линиях дикого типа *Drosophila melanogaster*: «Host» (Екатеринбург, 2005), «Белгород» (Белгород, 2006), «Биос-3» (Дзуреченск, 2007) установлено, что мобильные генетические элементы (транспозоны *P* и *hobo*) могут играть немаловажную роль в становлении наследственной изменчивости, особенно при длительной направленной селекции.

2. При воздействии высокими дозами ионизирующих излучений, либо цитостатиками линии, условно обозначенные нами как чувствительные («Биос-3») характеризуются в большинстве случаев пониженной фертильностью и высокой частотой доминантной эмбриональной гибели потомства, тогда как линии, обозначенные как устойчивые («Белгород»), характеризуются повышенной или в пределах нормы плодовитостью и пониженной либо в пределах нормы летальностью потомства.

3. Гетерогенность локализации *P* и *hobo* элементов в линиях дикого типа «Биос-3» и «Host» определена нами как высокая. Большинство *P* и *hobo* элементов расположены не одинаково, но некоторые из транспозонов можно локализовать как стабильные.

4. Исследовали воздействие стресса химической и физической природы на соматические клетки (изменение пространственной структуры крыла). Установили, что цитостатики: этопозид и циклофосфан действуют на изменение пространственной структуры крыла сходным образом. Гельданамицин, митомицин-С и метотрексат также изменяют морфометрические параметры крыловой пластинки. Воздействие ионизирующих излучений на соматические клетки имагинальных крыловых дисков зависит от чувствительности линии. Лейцин, меченный по ^{14}C , влияет на соматические клетки имагинальных дисков, изменяя крыловые параметры как в линии «Биос-3», так и в линии «Белгород».

5. Уменьшение копийности *hobo* происходит при первичном воздействии метотрексата во всех трех линиях: «Биос-3», «Белгород» и «Host».

Длительная направленная селекция в присутствии метотрексата приводит к тому, что в линии «Host» происходит увеличение копийности *hobo* элемента, в линии «Биос-3» наблюдается максимальное увеличение копийности *hobo*, а в линии «Белгород» происходит уменьшение копийности *hobo*. Возможные механизмы изменения количества копийности *hobo*: амплификация и эксцизия. Различия в копийности можно исследовать другими ПЦР методами.

6. Результаты морфометрического анализа показывают изменение пространственной структуры крыла у гибридных линий, полученных с использованием линий дикого типа и мутантной линии *vestigial*, подвергнутых длительной направленной селекции с изменением пространственной структуры крыла с линиями, подвергшимися длительной направленной селекции в присутствии метотрексата. Несмотря на то, что в обоих случаях происходит изменение активности дигидрофолатредуктазы, пространственная структура крыла в случае химического стресса отличается от таковой при направленном отборе на усиление апоптоза в крыловом имагинальном диске у гетерозигот по *vestigial*. Возникновение мутантных фенотипов в ходе селекции свидетельствует в пользу нашего предположения о возможной активизация транспозонов.

Список литературы

1. Антоненко О.В. Роль мобильных генетических элементов в отклике на селекцию по количественным признакам у *Drosophila melanogaster*: Дис ... канд. биол.наук. Новосибирск: Ин-т цитологии и генетики СО РАН, 2008. с.5.
2. Васильева Л.А. Влияние изогенизации на фенотипическое проявление количественных признаков у *Drosophila melanogaster* // Генетика. - 2004. - Т. 40. - № 8. - С. 1053–1057.
3. Васильева Л.А., Антоненко О.В., Выхристюк О.В., Захаров И.К. Индукция транспозиций мобильных генетических элементов *Drosophila melanogaster* различными стрессовыми факторами // Информ. вестник ВОГиС. - 2007. - Т. 11. - № 384. - С. 662–671.
4. Васильева Л.А., Антоненко О.В., Захаров И.К. Роль мобильных генетических элементов в геноме *Drosophila melanogaster* // Вавиловский журнал генетики и селекции. -2011, - Т 15. - № 2.
5. Васильева Л.А., Забанов С.А., Ратнер В.А. и др. Экспрессия количественного признака *radius incompletus*, температурные эффекты и локализация мобильных элементов у дрозофилы. Сообщение II. Мобильные генетические элементы Dm412 // Генетика. - 1987а. - Т. 23. - № 1. - С. 81–92.
6. Васильева Л.А., Ратнер В.А., Антоненко О.В. и др. Индукция транспозиций МГЭ 412 различными дозами паров этанола в изогенной линии *Drosophila melanogaster* // Генетика. – 2003. – Т.39. - №5. – С. 717-720.
7. Волчков Ю. А. О соотношении мутагенного и повреждающего действия ионизирующих излучений: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Ю. А. Волчков; Ленинг. ордена Ленина и ордена трудового красного знамени гос. ун-т им. А. А. Жданова. – Ленинград, 1972. – 24 с.
8. Галицкий В.А. Эпигенетическая природа старения // Цитология. – 2009. – Т.51. - №5. – С. 388-397.

9. Гвоздев В.А., Кайданов Л.З. Геномная изменчивость, обусловленная транспозициями мобильных элементов, и приспособленность особей *Drosophila melanogaster* // Журн. общ. биологии. - 1986. - Т. 47. - № 1. - С. 51–63.
10. Герасимова Т.И., Мизрохи Л.Ю., Георгиев Г.П. Транспозиционные взрывы в отдельных зародышевых клетках при генетической дестабилизации у *Drosophila melanogaster* // Докл. АН СССР. - 1984. - Т. 274. - № 6. - С. 1473–1476.
11. Георгиев Г.П., Корочкина С.Е., Могила В.А., Герасимова Т.И. Индукция одиночных транспозиций мобильных генетических элементов у *Drosophila melanogaster* с помощью митомицина С // Генетика. - 1988. - Т. 24. - № 3. - С. 461–467.
12. Голубовский М.Д., Захаров И.К. Совместные реверсии двух нестабильных генов в X-хромосоме *Drosophila melanogaster*. // Генетика. – 1979. – Т. 15. – С. 1599-1609.
13. Грачева Е.М., Захаров И.К., Волошина М.А., Георгиев Г.П., Голубовский М.Д. Вспышки мутаций гена yellow в природной популяции *Drosophila melanogaster* связаны с инсерцией транспозона hobo. // Генетика. – 1998. – Т.34. – С. 364-370.
14. Забанов С. А., Васильева Л. А., Ратнер В. А. Индукция транспозиций МГ Э Dm412 при помощи γ -облучения в изогенной линии *Drosophila melanogaster* // Генетика. – 1995. – Т. 31, - № 6.– С. 798–803.
15. Зайнуллин В.Г., Москалев А.А. Влияние хронического облучения в малых дозах и этопозида на продолжительность жизни особей линии mei-41 *Drosophila melanogaster* // Генетика. — 2000. — Т. 36. — № 4. — С. 578-580.
16. Зайнуллин В.Г., Юшкова Е.А. Динамика выживаемости экспериментальных популяций *Drosophila melanogaster*, подвергшихся хроническому облучению ионизирующей радиацией // Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. – Т. 48. - №6. – С. 677-682.

17. Захаренко Л.П., Воложина М.А., Захаров И.К. Влияние генетического окружения на локус-специфичную нестабильность в гене yellow *Drosophila melanogaster* из Умани // Генетика, 2007. - Т. 43. - №7. - С. 938-342.
18. Захаров И.К. Мутации и мутационный процесс в природных популяциях *Drosophila melanogaster*: Дис. ... д-ра биол. наук. Новосибирск: Ин-т цитологии и генетики СО РАН, 1995. 48 с.
19. Кайданов Л.З., Галкин А.П., Иовлева О.В., Сиделева О.Г. Направленный характер перемещения по геному мобильного генетического элемента hobo в длительно селектируемой линии НА *Drosophila melanogaster* // Цитология и генетика. 1996. – Т.30. - №1. – С. 23-30.
20. Коваленко Л.В. Захаренко Л.П., Захаров И.К. Транспозиция hobo-элемента в соматических клетках *Drosophila melanogaster* // Генетика. – 2006. - Т.42. - №2. - С. 177-184.
21. Козерецкая И.А. Мобильные генетические элементы *Drosophila melanogaster*. Популяционно-генетический аспект. // Вісн. Укр. Тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2010. – Т. 8. - №1. – С. 81-90.
22. Мыльников С. В. Генетические последствия отбора по эмбриональной смертности в экспериментах с дрозофилой: автореф. дис. ... канд. биол. наук / С. В. Мыльников; Гос. Санкт-Петербургский ун-т. – Санкт-Петербург, 1992. – 19 с.
23. Назаров А.К. Возрастные изменения веса и синтетической активности личиночного жирового тела дрозофилы // Фауна Урала и Европейского Севера. – 1977. – Т.6. – С. 54-61.
24. Проценко Л.Д., Булкина З.П. Химия и фармакология синтетических противоопухолевых препаратов. К.: 1985. С. 63.
25. Ратнер В.А., Васильева Л.А. Количественный признак у дрозофилы: генетические, онтогенетические, цитогенетические и популяционные аспекты // Генетика. - 1987. - Т. 23. - № 6. - С. 1070–1081.

26. Ратнер В. А., Васильева Л.А. Мобильные генетические элементы (МГ Э) и эволюция геномов // Современные проблемы теории Эволюции (ред. Л.П.Татаринов). – М.: Наука. – 1993. – С. 43–59.
27. Сапунов В. Б. Гормональный контроль репродуктивной функции и мутабельность в инбредных и аутбредных линиях *Drosophila melanogaster*: автореф. дис. ... канд. биол. наук / В. Б. Сапунов; Ленинг. ордена Ленина и ордена трудового красного знамени гос. ун-т им. А. А. Жданова. – Ленинград, 1980. – 25 с.
28. Щербата Г.Р., Матийцев Н.П., Черник Я.И., Максимив Д.В. Химически индуцированный мутагенез у *Drosophila melanogaster* с целью получения мутантов с изменениями в структуре мозга // Генетика. 2004. - Т. 40. - № 9. - С. 1280-1285.
29. Юшкова Е.А., Зайнуллин В.Г., Старцева О.А. Оценка эффектов действия γ -излучения в малых дозах у мутантов по репарации и мейотической рекомбинации *Drosophila melanogaster* // Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. – Т.51. - №6. – С.698-704.
30. Abbott L. A. Ultrastructure of Cell Death in Gamma- or X-irradiated Imaginal Wing Discs of *Drosophila* / L. A. Abbott // Radiat. Res. - 1983. - V. 96. - P. 611-627.
31. Abraham S.K., Graf U. Protection by coffee aganst somatic genotoxicity in *Drosophila*: role of bioactivation capacity. // Food Chem. Toxicol. – 1996. – V. 34. – P. 1-14.
32. Adler P. N. Cell Proliferation and DNA Replication in the Imaginal Wing Disc of *Drosophila melanogaster* / P. N. Adler, M. MacQueen // Development biology. - 1984. - V. 103. - P. 28-37.
33. Affleck J.G., Al-Batayneh K.M., Neumann K., Cole S.P., Walker V.K. *Drosophila* dihydrofolate reductase mutations confer antifolate resistance to mammalian cells. // Eur. J. Pharmacol. – 2006. – V. 529. – P. 71-78.

34. Affleck J.G., Neumann K., Wong L., Walker V.K. The effects of methotrexate on *Drosophila* development, female fecundity, and gene expression. // *Toxicol. Sci.* – 2006. – V. 89. – P. 495-503.
35. Affleck J.G., Walker V.K. Transgenic rescue of methotrexate-induced teratogenicity in *Drosophila melanogaster*. // *Toxicol. Sci.* – 2007. – V. 99. – P. 522-531.
36. Agrawal N., Pallos J., Slepko N., Apostol B.L., Bodai L., Chang L.W., Chiang A.S., Thompson L.M., Marsh J.L. Identification of combinatorial drug regimens for treatment of Huntington's disease using *Drosophila*. // *Proc. Nat.* – 2005. – V. 102. – P. 3777-3781.
37. Al-Batayneh K.M. Mutations in *Drosophila* Dihydrofolate Reductase and Methotrexate resistance. Thesis... degree of Doctor of Philosophy. Canada, Kingston: Queen's University, 2001. P. 8-9.
38. Anderson D., Bishop J.B., Garner R.C., Ostrovsky-Wegman P., Selby P.B. Cyclophosphamide: review of its mutagenicity for an assessment of potential germ cell risk. // *Mutat. Res.* – 1995. – V. 330. – P. 115-118.
39. Anetor J.I. Industrialization and the increasing risk of genome instability in developing countries: nutrigenomics as a promising antidote. // *Afr. J. Med. Sci.* – 2010. – V. 39. – P. 7-20.
40. Atkinson P.W., Warren W.D., O'Brochta D.A. The hobo transposable element of *Drosophila* can be cross-mobilized in houseflies and excises like the Ac element of maize // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* -1993. - V. 90. - I. 20. - P. 9693-9697.
41. Auluck P.K., Meulener M.C., Bonini N.M. Mechanisms of suppression of α -synuclein neurotoxicity by geldanamycin in *Drosophila*. // *J. Biol. Chem.* – 2005. – V. 280. – P. 2873-2878.
42. Ayarpadikannan S., Kim H.S. The impact of transposable elements in genome evolution and genetic instability and their implication in various diseases. // *Genomics Inform.* – 2014. – V. 12. – P. 98-104.

43. Aydemir N., Sevim N., Celikler S., Vatan O., Bilaloglu R. Antimutagenicity of amifostine against the anticancer drug fotemustine in the *Drosophila* somatic mutation and recombination (SMART) test. // *Mutat. Res.* – 2009. – 679. – P. 1-5.
44. Batiste-Alentorn M., Xamena N., Creus A., Marcos R. Genotoxic evaluation of ten carcinogens in the *Drosophila melanogaster* wing spot test. // *Experimentia.* – 1995. – V. 51. – P. 73-76.
45. Berg R.L. A simultaneous mutability raise at the singed locus in two out three *Drosophila melanogaster* populations studied in 1973 // *Drosophila Information Service.* -1974. - V. 51. - P. 100.
46. Bhattacharjee P., Banerjee M., Giri A.K. Role of genomic instability in arsenic-induced carcinogenicity. A review. // *Environ. Int.* – 2013. - V. 53. – P. 29-40.
47. Biemont C., Vieira C. What transposable elements tell us about genome organization and evolution: the case of *Drosophila* // *Cytogenet. Genome Res.* - 2005. - V. 110. - № 184. - P. 25–34.
48. Chung H., Bogwitz M.R., McCart C., Andrianopoulos P., Daborn P.S. Cis-regulatory elements in the accord retrotransposon result in tissue – specific expression of *Drosophila melanogaster* insecticide resistance gene *Cyp6g1*. // *Genetics.* – 2007. V. 175. P. 1071-1077.
49. Danesi C.C., Bellagamba B.C., Dihl R.R., de Andrade H.H., Cunha K.S., Lehmann M. Evaluation of the genotoxicity of cisplatin, paclitaxel and 5-fluorouracil combined treatment in the *Drosophila* wing-spot test. // *Food Chem. Toxicol.* – 2010. – V. 48. – P. 3120-3124.
50. De Andrade U.U., Santos J.H., Gimmler-Luz M.C., Correa M.J., Lehmann M., Reguly M.L. Suppressing effect of vanillin on chromosome aberrations that occur spontaneously or are induced by Mitomycin – C in germ cell line of *Drosophila melanogaster*. // *Mutat. Res.* – 1992. – V. 279. – P. 281-287.

51. Debat V., Milton C.C., Rutherford S., Klingenberg C.P., Hofmann A.A. Hsp 90 and the quantitative variation of wing shape in *Drosophila melanogaster*. // *Evolution*. – 2006. – V. 60. – P. 2529-2538.
52. Demerec M. Unstable genes in *Drosophila* // *Cold Spr. Harbor Symp. Quant. Biol.* - 1941. - V. 2. - P. 141–151.
53. Duncan R.F. Inhibition of Hsp 90 function delays and impairs recovery from heat shock. // *FEBS J.* – 2005. – V. 272. – P. 5244-5256.
54. Eder J.P., Chan V.T., Niemierko E., Teicher B.A., Schnipper L.E. Conditional expression of wild-type topoisomerase II complements a mutant enzyme in mammalian cells. – 1993. – V. 268. – P. 13844-13849.
55. Engels W.R. P-elements in *Drosophila* // *Mobile DNA* / Eds D.E. Berg, M.M. Howe. Washington D.S.: Amer. Soc. Microbiol. - 1989. - P. 437–484.
56. Frei H., Würzler F.E. Induction of somatic mutation and recombination by four inhibitors of eukaryotic topoisomerases assayed in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. // *Mutagenesis*. – 1996. – V. 11. – P. 315-325.
57. Fried P., Iber D. Dynamic scaling of morphogen gradients on growing domains. // *Nat Commun.* – 2014. – 5: 5077.
58. Fristrom D. Cellular degeneration in wing development of the mutant vestigial of *Drosophila melanogaster* / D. Fristrom // *Brief. Notes.* - 1968. - P. 488-491.
59. Garcia-Bellido A., Merriam J.R. Genetic analysis of cell heredity in imaginal discs of *Drosophila melanogaster*. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 1971. – V. 68. – P. 2222-2226.
60. Georgiev P.G., Korochkina S.E., Georgieva S.G., Gerasimova T.I. Mitomycin-C induces genomic rearrangements involving transposable elements in *Drosophila melanogaster*. // *Mol. Gen. Genet.* – 1990. – V. 220. – P. 229-233.
61. Geyer P.K., Richardson K.L., Corces V.G., Green M.M. Genetic instability in *Drosophila melanogaster*: P-element mutagenesis by gene conversion. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1988. - V. 85. - P. 6455-6459.

62. Goux J.M. Variation de la penetrance et de la dominance an locus vestigial chez la drosophile. // C.R. Acad Sci. - 1973. - V. 277. - P. 2413-2415.
63. Goux J.M., Paillard M. Analyse de la penetrance incomplite an locus vestigial chez la Drosophila // C.R. Acad. Sci. Paris. - 1976. - V. 285. - P. 667-669.
64. Graf U., Würgler F.E. Variation of MMS sensitivity during larval development of *Drosophila melanogaster*. // Arch. Genet. (Zur). – 1975. – V. 48. – P. 112-115.
65. Graf U., Würgler F.E., Katz A.J., Frei H., Juon H., Hall C.B., Kale P.G. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. // Environ. Mutagen. – 1984. – V. 6. - P. 153-188.
66. Green M.M. The genetics of mutable gene at the white locus // Genetics. – 1967. - № 5. - P. 429–441.
67. Hao H., Tyshenko M.G., Walker V.K. Isolation and characterization of a dihydrofolate reductase gene mutation in methotrexate-resistant *Drosophila* cells. // Gene Expr. – 1996. – V. 6. – P. 231-239.
68. Hassan M. Analysis of mutation induced by 2000 r gamma radiation in *Drosophila simulans* / M. Hassan // Online journal of Biological Sciences. - 2001. - V. 1. - P. 269-271.
69. Haynie J.L. The effect of X-rays on the proliferation dynamics of cells in the imaginal wing disc of *Drosophila melanogaster* / J.L. Haynie, P.J. Bryant // Wilhelm Roux`s Archives. - 1977. - V. 183. - P. 85-100.
70. Kaplan W.D., Pelc S.R. Autoradiographic studies of *Drosophila* gonads following the feeding of ¹⁴C labelled formaldehyde. // Z. Indukt. Abstamm. Vererbungsl. – 1956. – V. 87. – P. 356-364.
71. King R.S. Mutation in *Drosophila melanogaster* Males exposed to beta-radiation from neutron-activated phosphorus-bakelite plaques. // Radiat Res. – 1954. – V. 1. – P. 369-380.

72. King E.G., Kislukhin G., Walters K.N., Long A.D. Using *Drosophila melanogaster* to identify chemotherapy toxicity genes. // *Genetics*. – 2014. – V. 198. – P. 31-43.
73. Kislukhin G., King E.G., Walters K.N., Macdonald S.J., Long A.D. The genetic architecture of methotrexate toxicity is similar in *Drosophila melanogaster* and humans. // *G3 (Bethesda)*. – 2013. – V. 3. – P. 1301-1310.
74. Korol A., Rashkovetsky E., Iliadu K., Nevo E. *Drosophila* flies in “Evolution Canyon” as a model for incipient sympatric speciation. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2006. V. 103. – P. 18184-18189.
75. Kravets A.P., Mousseau T.A., Litvinchuk A.V., Ostermiller S. Association of P-element activity and DNA methylation pattern changes in the conditions of *Drosophila melanogaster* prolonged irradiation. // *Tsitol. Genet.* – 2010. – V. 44. – P. 29-33.
76. Kündig C., Leblanc E., Papadopoulou B., Ouellette M. Role of the locus and of the resistance gene on gene amplification frequency in methotrexate resistant *Leishmania tarentolae*. // *Nucleic Acids Res.* – 1999. – V.27. – P. 3653-3659.
77. Kylsten P. Imaginal tissues of *Drosophila melanogaster* exhibit different modes of cell proliferation control / P. Kylsten, R. Saint // *Developmental biology*. – 1997. – V. 192. – P. 509-522.
78. Kylyc A., Yesilada E. Preliminary results on antigenotoxic effects of dried mycelia of two medicinal mushrooms in *Drosophila melanogaster* somatic mutation and recombination test. // *Int. J. Med. Mushrooms*. – 2013. – V. 15. – P. 415-421.
79. Laundrie B., Peterson J.S., Baum J.S., Chang J.C., Fileppo D., Thompson S.R., McCall K. Germline cell death is inhibited by P-element insertions disrupting the *dcp-1/pita* nested gene pair in *Drosophila*. // *Genetics*. – 2003. – V. 165. – P. 1881-1888.
80. Legent K., Mas M., Dutriaux A., Bertrand S., Flagiello D., Delanoue R., Piskur J., Silber J. In vivo analysis of *Drosophila* deoxyribonucleoside kinase

function in cell cycle, cell survival and anti-cancer drugs resistance. // Cell Cycle. – 2006. – V. 5. – P. 740-749.

81. Li G., Gan Y., Fan Y., Wu Y., Lin H., Song Y., Cai X., Yu X., Pan W., Yao M., Gu J., Tu H. Enriched environment inhibits mouse pancreatic cancer growth and down-regulates the expression of mitochondria-related genes in cancer cells. // Sci. Rep. – 2015. – V. 5. P. 7856.

82. Mahendra P.S., Mishra M., Sharmat et al. Genotoxicity and apoptosis in *Drosophila melanogaster* exposed to benzene, toluene and xylene: Attenuation by quercetin and curcumin // Toxicology and Applied Pharmacology. – 2011. - V.253. - I. 1. - P. 14-30.

83. Makcymiv D.V., Shcherbata H.R., Chernyk Ial. The detection and study of Mitomycin C-induced mutational changes in stable lines of *Drosophila melanogaster*. // Cytolog. Genet. – 1995. – V. 29. – P. 62-68.

84. Malmendal A., Sorensen J.G., Overgaard J., Holmstrup M., Nielsen N.C., Loeschcke V. Metabolomic analysis of the selection response of *Drosophila melanogaster* to environmental stress: are there links to gene expression and phenotypic traits? // Naturwissenschaften. – 2013. – V. 100. – P. 417-427.

85. Markowitz E.H. Gamma ray-induced mutations in *Drosophila melanogaster* oocytes: the phenomenon of dose rate / E.H. Markowitz // Genetics. – 1970. - № 64. –P. 313-322.

86. Martin F.A., Perez-Garijo A., Morata G. Apoptosis in *Drosophila*: compensatory proliferation and undead cells // Inv. J. Dev. Biol., 2009 - V. 53. - P. 1341-1347.

87. Matsui A., Ihara T., Suda H., Mikami H., Semba K. Gene amplification mechanisms and involvement in cancer // Biomil. Contracepts. – 2013. - V. 4. – P. 567-582.

88. Mavor J.W. A comparison of the susceptibility to X-rays of *Drosophila melanogaster* at various stages of its life-cycle / J.W. Mavor // The journal of experimental zoology. – 1925. –Vol. 47. №1. – P. 63-83.

89. McClintock B. Controlling elements and the gene // Cold. Spr. Harb. Symp. Quant. Biol. - 1956. - V. 21. - P. 197–216.
90. McClintock B. Some parallels between gene control systems in maize and in bacteria // Amer. Natur. - 1961. - V. 95. - P. 265–277.
91. Miyata Y. Molecular chaperone Hsp 90 as a novel target for cancer chemotherapy. // Nihon. Yakurigaku. Zasshi. – 2003. – V. 121. – P. 33-42.
92. Mukherjee R. Mutagenic action of mitomycin C on *Drosophila melanogaster*. // Genetics. – 1965. – V. 51. – P. 947-951.
93. Nahon E., Best-Belpomnee M., Saucier J.M. Analysis of the DNA topoisomerase II – mediated cleavage of the long terminal repeat of *Drosophila* 1731 retrotransposon. – 1993. – V. 218. – P. 95-102.
94. Nasrat G.E. The effect of pretreatment with maleic hydrazide of the mutation rate induced by gamma radiation in *Drosophila melanogaster* / G.E. Nasrat // Japan J. Genetics. – 1967. – V. 42. - № 1. – P. 39-42.
95. Nepoux V., Babin A., Haag C., Kawecki T.J., Le Rouzic A. Quantitative genetics of learning ability and resistance to stress in *Drosophila melanogaster*. // Ecol. Evol. – 2015. – V. 5. – P. 543-556.
96. Neumann K., Al-Batayneh K.M., Parsons-Sheldrake J., Tyshenko M.G., Flintoff W.F., Cole S.P., Walker V.K. A single point mutation in *Drosophila* dihydrofolate reductase converts methotrexate resistance to a transgenic CHO cell line. // Genome. – 2003. – V. 46. –P. 707-715.
97. Nezis I.P., Stravopodis D.J., Parpassideri I., Robert-Nicoud M., Margaritis L.H. Dynamics of apoptosis in the ovarian follicle cells during the late stages of *Drosophila* oogenesis. // 2002. – V. 907. – P. 401-409.
98. Nezis I.P., Stravopodis D.J., Parpassideri I., Robert-Nicoud M., Margaritis L.H. Stage-specific apoptosis pattern during *Drosophila* oogenesis. // Eur. J. Cell. Biol. – 2000. – V. 79. – P. 610-620.
99. Niikawa M., Nakamura T., Nagase H. Effect of cotreatment of aspirin metabolites on mitomycin C-induced genotoxicity using the somatic mutation and

recombination test in *Drosophila melanogaster*. // Drug Chem. Toxicol. – 2006. – V. 29. – P. 379-396.

100. Niikawa M., Nagase H. Effect of aspirin on DNA damage induced by MMC in *Drosophila*. // Biomed. Pharmacother. – 2007. – V. 61. – P 250-253.

101. Niikawa M., Shin S., Nagase H. Suppressive effect of post- or pre-treatment of aspirin metabolite on mitomycin C-induced genotoxicity using the somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. // Biomed. Pharmacother. – 2007. – V. 61. – P. 113-119.

102. Olivieri G., Olivieri A. Autoradiographic study of nucleic acid synthesis during spermatogenesis in *Drosophila melanogaster*. // Mutat. Res. – 1965. – V. 2. – P. 366-380.

103. Pasyukova E.G., Belyaeva E.S., Kogan G.L., Kaidanov L.Z., Gvozdev V.A. Concerted transpositions of mobile genetic elements coupled with fitness changes in *Drosophila melanogaster*. // Mol. Biol. Evol. – 1986. – V. 3. – P. 299-312.

104. Purdom C.E. Genetic effect of incorporated ¹⁴C in *Drosophila melanogaster*. // Mutat.Res. – 1965. – V. 2. – P. 156-167.

105. Puro J. Recovery of radiation-induced autosomal chromatid interchanges in oocytes of *Drosophila melanogaster* / J. Puro // Hereditas. – 1978. - № 88. – P. 203-211.

106. Ranzani M., Annunziato S., Adams D.S., Montini E. Cancer gene discovery: exploiting insertional mutagenesis. // Mol.Cancer Res. – 2013. – V. 11. – P. 1141-1158.

107. Riedel H. Der Einfluss der Entwicklungs temperatur unf Flügel-Tibialange von *D. melanogaster* (wild,vestigial) und die reziproken Kreuzung.// W. Roux Archiv. - 1934. - V. 132. - P. 463-509.

108. Rüegg J.C. Oscillatory mechanism in fibrillar insect flight muscle. // Experientia. – 1968. – V. 24. – P. 529-536.

109. Sadiq M.F., al-Quraishe F.A. The effect of trifluoperazine on the induction of sex-linked recessive lethals by cyclophosphamide in *Drosophila melanogaster*. // *Drug Chem. Toxicol.* – 2004. – V. 27. – P. 169-178.
110. Schimenti K.S., Hanneman W.H., Schimenti J.C. Evidence for cyclophosphamide – induced gene conversion and mutation in mouse germ cells. // 1997. – V. 147. – P. 343-350.
111. Schweizer P.M., Spanne P., Di Michel M., Jauch U., Blattman H., Laissue J.A. Tissue lesion caused by microplanar blams of synchrotron-generated X-rays in *Drosophila melanogaster*. // *Int. J. Radiat.Biol.* – 2000. – V. 76. P. 567-574.
112. Sheen F., Lim K., Simmons M.J. 1993. Genetic Instability in *Drosophila melanogaster* Mediated by hobo Transposable Elements // *Genetics.* - 1993. - V. 133. - P. 315-334.
113. Specchia V., Piacentini L., Tritto P., Fanti L., D'Alesandro R., Palumbo G., Pimpinelli S., Bozzertti M.P. Hsp 90 prevents phenotypic variation by suppressing the mutagenic activity of transposons. // *Nature.* – 2010. – V. 463. – P. 662-665.
114. Strand D., McDonald J.F. Insertion of a copia element5' *D. melanogaster* (*adh*) – alcohol dehydrogenase-gene is associated with altered developmental and tissue specific patterns of expression // *Genetics.* - 1989. - V. 121. - № 4. - P. 787–794.
115. Streckl R.D., MacGaffey J.E., Beckendorf S.K. The structure of hobo transposable elements and their insertion sites. // *The EMBO Journal.* – 1986. - V.5. - №. 13 - P.3615-3623.
116. Täuber U., Weinmann H.J., Panzer M., Acksteiner B., Vollert B., Schulze P.E. Whole-body autoradiographic studies in rats with gadolinium-diethylenetriaminepentaacetic acid, a new contrast agent for magnetic resonance imaging. // *Arzneimittelforschung.* – 1986. – V. 36. – P. 1089-1091.

117. Torres C., Creus A., Marcos R. Genotoxic activity of four inhibitors of DNA Topoisomerases in larval cells of *Drosophila melanogaster* as measured in the wing spot assay. // *Mutat. Res.* – 1998. – V. 413. – P. 191-203.
118. Walker V.K., Williamson S.H. Genetic analysis of mitomycin C – induced interchange in *Drosophila melanogaster* females. // *Mutat. Res.* – 1975. – V. 28. – P. 227-237.
119. Yeyati P.L., Bancewicz R.M., Maule J., van Heyningen V. Hsp 90 selectively modulates phenotype in vertebrate development. // *PLoS Genet.* – 2007. – V. 3. – P. 43.
120. Yun L., Agrawal A.F. Variation in the strength of inbreeding depression across environments: effects of stress and density dependence. // *Evolution.* – 2014. – V. 68. – P. 3599-3606.
121. Zijlstra J.A., Vogel E.W. Influence of metabolic factors on the mutagenic effectiveness of cyclophosphamide in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* – 1989. – V. 210. – P. 79-92.

Приложение

Приложение 1.

Данные по жизнеспособности линии «Белгород» при воздействии ионизирующими излучениями, статистический анализ по критерию Манна-Уитни.

		Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Z	p-value	Valid N	Valid N	2*1sided
Белгород 1000 Р оба	СИП	962,5000	468,5000	192,5000	2,727802	0,006376	2,728077	0,006371	30	23	0,005504
Белгород 1000 Р самка	СИП	897,0000	429,0000	198,0000	2,229691	0,025769	2,231003	0,025682	30	21	0,024824
Белгород 1000 Р самец	СИП	803,5000	681,5000	338,5000	-0,365563	0,714691	-0,365598	0,714665	30	24	0,710479
Белгород 2000 Р оба	СИП	690,0000	256,0000	165,0000	0,780107	0,435329	0,780225	0,435259	30	13	0,440218
Белгород 2000 Р самка	СИП	860,0000	625,0000	325,0000	0,600568	0,548128	0,600648	0,548075	30	24	0,551152
Белгород 2000 Р самец	СИП	864,0000	676,0000	351,0000	0,397222	0,691204	0,397402	0,691071	30	25	0,693524
Белгород 3000 Р оба	СИП	722,5000	655,5000	257,5000	-1,33356	0,182348	-1,33382	0,182264	30	22	0,180930
Белгород 3000 Р самка	СИП	946,5000	593,5000	268,5000	1,791727	0,073178	1,795813	0,072525	30	25	0,071636
Белгород 3000 Р самец	СИП	1045,500	494,5000	169,5000	3,465132	0,000530	3,466008	0,000528	30	25	0,000351
Белгород Г 1000 оба	СИП	1105,000	435,0000	110,0000	4,470866	0,000008	4,472157	0,000008	30	25	0,000002
Белгород Г 1000 самка	СИП	995,5000	544,5000	219,5000	2,619978	0,008794	2,620356	0,008784	30	25	0,007832
Белгород Г 1000 самец	СИП	990,0000	550,0000	225,0000	2,527011	0,011504	2,527695	0,011482	30	25	0,010695
Белгород Г 2000 оба	СИП	883,5000	656,5000	331,5000	0,726833	0,467329	0,726911	0,467281	30	25	0,465252
Белгород Г 2000 самка	СИП	821,0000	664,0000	356,0000	-0,060927	0,951417	-0,060946	0,951402	30	24	0,951831
Белгород Г 2000 самец	СИП	586,5000	898,5000	121,5000	-4,14305	0,000034	-4,14344	0,000034	30	24	0,000013
Белгород Г 3000 оба	СИП	864,0000	906,0000	399,0000	-0,538250	0,590405	-0,538328	0,590351	30	29	0,592997
Белгород Г 3000 самка	СИП	946,5000	593,5000	268,5000	1,791727	0,073178	1,795813	0,072525	30	25	0,071636
Белгород Г 3000 самец	СИП	1045,500	494,5000	169,5000	3,465132	0,000530	3,466008	0,000528	30	25	0,000351

Приложение 2.

Данные по жизнеспособности линии «Биос-3» при воздействии ионизирующими излучениями, статистический анализ по критерию Манна-Уитни.

		Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Z	p-value	Valid N	Valid N	2*1sided
Биос-3 1000 Р оба	СИП	616,0000	245,0000	92,00000	2,950603	0,003172	2,950603	0,003172	24	17	0,002486
Биос-3 1000 Р самка	СИП	524,0000	296,0000	160,0000	0,869648	0,384493	0,869648	0,384493	24	16	0,388824
Биос-3 1000 Р самец	СИП	672,0000	363,0000	132,0000	2,718719	0,006554	2,718809	0,006552	24	21	0,005719
Биос-3 2000 Р оба	СИП	577,0000	648,0000	277,0000	-0,450000	0,652711	-0,450000	0,652711	24	25	0,655526
Биос-3 2000 Р самка	СИП	661,0000	515,0000	215,0000	1,494925	0,134935	1,495006	0,134914	24	24	0,135903
Биос-3 2000 Р самец	СИП	872,0000	403,0000	52,00000	5,039072	0,000000	5,049266	0,000000	24	26	0,000000
Биос-3 3000 Р оба	СИП	678,0000	498,0000	198,0000	1,845459	0,064972	1,845960	0,064899	24	24	0,064613
Биос-3 3000 Р самка	СИП	796,0000	429,0000	104,0000	3,910000	0,000092	3,910499	0,000092	24	25	0,000043
Биос-3 3000 Р самец	СИП	891,0000	334,0000	9,000000	5,810000	0,000000	5,913643	0,000000	24	25	0,000000
Биос-3 Г 1000 оба	СИП	890,0000	335,0000	10,00000	5,790000	0,000000	5,790000	0,000000	24	25	0,000000
Биос-3 Г 1000 самка	СИП	602,0000	623,0000	298,0000	0,030000	0,976067	0,030002	0,976066	24	25	0,976289
Биос-3 Г 1000 самец	СИП	601,0000	624,0000	299,0000	0,010000	0,992021	0,010001	0,992020	24	25	0,992095
Биос-3 Г 2000 оба	СИП	669,0000	556,0000	231,0000	1,370000	0,170688	1,370070	0,170666	24	25	0,172209
Биос-3 Г 2000 самка	СИП	719,0000	506,0000	181,0000	2,370000	0,017789	2,370181	0,017780	24	25	0,016824
Биос-3 Г 2000 самец	СИП	757,0000	468,0000	143,0000	3,130000	0,001748	3,130080	0,001748	24	25	0,001353
Биос-3 Г 3000 оба	СИП	963,0000	468,0000	33,00000	5,619657	0,000000	5,633528	0,000000	24	29	0,000000
Биос-3 Г 3000 самка	СИП	761,0000	367,0000	91,00000	3,926421	0,000086	3,927556	0,000086	24	23	0,000037
Биос-3 Г 3000 самец	СИП	669,0000	556,0000	231,0000	1,370000	0,170688	1,370000	0,170688	24	25	0,172209

Приложение 3.

Данные по жизнеспособности линий «Белгород» и «Биос-3» при воздействии ^{14}C ,
статистический анализ по критерию Манна-Уитни.

		Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Z	p-value	Valid N	Valid N	2*1sided
Белгород 2-3 возраст С14	СИП	488,0000	547,0000	163,0000	-1,97580	0,048178	-1,97619	0,048134	25	20	0,047452
Белгород 1 возраст С14	СИП	519,5000	755,5000	194,5000	-2,27983	0,022618	-2,28011	0,022602	25	25	0,021106
Белгород самка С14	СИП	819,5000	455,5000	130,5000	3,521617	0,000429	3,522632	0,000427	25	25	0,000262
Белгород самец С14	СИП	649,5000	385,5000	175,5000	1,690279	0,090976	1,692231	0,090603	25	20	0,088929
Биос-3 2-3 возраст С14	СИП	395,0000	425,0000	185,0000	-0,392226	0,694891	-0,392226	0,694891	20	20	0,698028
Биос-3 1 возраст С14	СИП	528,0000	507,0000	182,0000	1,541809	0,123121	1,541859	0,123109	20	25	0,123945
Биос-3 самка С14	СИП	537,0000	366,0000	113,0000	2,682129	0,007316	2,682238	0,007314	20	22	0,006384
Биос-3 самец С14	СИП	570,0000	250,0000	40,00000	4,314489	0,000016	4,314692	0,000016	20	20	0,000003
		Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Z	p-value	Valid N	Valid N	2*1sided
Белгород 2-3 возраст С14	РЭЛ	135,0000	190,0000	57,00000	-1,11505	0,264829	-1,11505	0,264829	12	13	0,270124
Белгород 1 возраст С14	РЭЛ	125,5000	174,5000	47,50000	-1,38564	0,165858	-1,38594	0,165766	12	12	0,159973
Белгород самка С14	РЭЛ	113,5000	139,5000	35,50000	-1,58251	0,113533	-1,58296	0,113432	12	10	0,107202
Белгород самец С14	РЭЛ	153,0000	100,0000	45,00000	0,956102	0,339022	0,961547	0,336278	12	10	0,346279
Биос-3 2-3 возраст С14	РЭЛ	208,0000	143,0000	52,00000	1,641026	0,100793	1,641026	0,100793	13	13	0,101431
Биос-3 1 возраст С14	РЭЛ	217,0000	108,0000	30,00000	2,583659	0,009776	2,583659	0,009776	13	12	0,007980
Биос-3 самка С14	РЭЛ	185,5000	90,50000	35,50000	1,798504	0,072098	1,798948	0,072028	13	10	0,066596
Биос-3 самец С14	РЭЛ	138,5000	137,5000	47,50000	-1,05430	0,291749	-1,05456	0,291629	13	10	0,283929

Приложение 3.

Данные по жизнеспособности линий «Белгород» и «Биос-3» при воздействии ^{14}C ,
статистический анализ по критерию Манна-Уитни (Продолжение).

		Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Z	p-value	Valid N	Valid N	2*1sided
Белгород 2-3 возраст С14	ПЭЛ	102,5000	222,5000	24,50000	-2,88282	0,003942	-2,88560	0,003907	12	13	0,002422
Белгород 1 возраст С14	ПЭЛ	94,00000	206,0000	16,00000	-3,20429	0,001354	-3,20708	0,001341	12	12	0,000656
Белгород самка С14	ПЭЛ	120,0000	133,0000	42,00000	-1,15392	0,248536	-1,15719	0,247197	12	10	0,254303
Белгород самец С14	ПЭЛ	125,0000	128,0000	47,00000	-0,824226	0,409812	-0,828919	0,407151	12	10	0,417582
Биос-3 2-3 возраст С14	ПЭЛ	165,5000	185,5000	74,50000	-0,487179	0,626131	-0,487596	0,625836	13	13	0,613870
Биос-3 1 возраст С14	ПЭЛ	132,0000	193,0000	41,00000	-1,98534	0,047108	-1,98955	0,046641	13	12	0,045711
Биос-3 самка С14	ПЭЛ	139,0000	137,0000	48,00000	-1,02329	0,306173	-1,02838	0,303772	13	10	0,312788
Биос-3 самец С14	ПЭЛ	135,0000	141,0000	44,00000	-1,27136	0,203603	-1,27768	0,201362	13	10	0,208044

Приложение 4.

Данные по жизнеспособности потомства линии «Биос-3» после воздействия ионизирующими излучениями, статистический анализ по критерию Манна-Уитни.

		Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Z	p-value	Valid N	Valid N	2*1sided
Биос-3 1000 Р оба	РЭЛ	232,0000	296,0000	1,000000	-4,52306	0,000006	-4,61711	0,000004	21	11	0,000000
Биос-3 1000 Р самка	РЭЛ	251,5000	378,5000	20,50000	-4,24264	0,000022	-4,33025	0,000015	21	14	0,000002
Биос-3 1000 Р самец	РЭЛ	263,0000	367,0000	32,00000	-3,85542	0,000116	-3,95762	0,000076	21	14	0,000033
Биос-3 2000 Р оба	РЭЛ	231,0000	297,0000	0,00	-4,56274	0,000005	-4,65761	0,000003	21	11	0,000000
Биос-3 2000 Р самка	РЭЛ	232,0000	296,0000	1,000000	-4,52306	0,000006	-4,61711	0,000004	21	11	0,000000
Биос-3 2000 Р самец	РЭЛ	279,5000	248,5000	48,50000	-2,63845	0,008329	-2,75587	0,005854	21	11	0,006383
Биос-3 3000 Р оба	РЭЛ	232,0000	329,0000	1,000000	-4,65930	0,000003	-4,74738	0,000002	21	12	0,000000
Биос-3 3000 Р самка	РЭЛ	246,0000	315,0000	15,00000	-4,13536	0,000035	-4,21354	0,000025	21	12	0,000004
Биос-3 3000 Р самец	РЭЛ	311,5000	249,5000	80,50000	-1,68408	0,092167	-1,78878	0,073651	21	12	0,088776
Биос-3 Г 1000 оба	РЭЛ	231,0000	297,0000	0,00	-4,56274	0,000005	-4,65761	0,000003	21	11	0,000000
Биос-3 Г 1000 самка	РЭЛ	249,5000	278,5000	18,50000	-3,82873	0,000129	-3,93321	0,000084	21	11	0,000024
Биос-3 Г 1000 самец	РЭЛ	300,0000	228,0000	69,00000	-1,82510	0,067988	-1,92665	0,054025	21	11	0,067453
Биос-3 Г 2000 оба	РЭЛ	233,0000	263,0000	2,000000	-4,33142	0,000015	-4,43079	0,000009	21	10	0,000000
Биос-3 Г 2000 самка	РЭЛ	233,0000	263,0000	2,000000	-4,33142	0,000015	-4,43079	0,000009	21	10	0,000000
Биос-3 Г 2000 самец	РЭЛ	309,5000	186,5000	78,50000	-1,09870	0,271900	-1,18276	0,236903	21	10	0,267824
Биос-3 Г 3000 оба	РЭЛ	231,0000	364,0000	0,00	-4,81964	0,000001	-4,90274	0,000001	21	13	0,000000
Биос-3 Г 3000 самка	РЭЛ	265,0000	330,0000	34,00000	-3,61473	0,000301	-3,71964	0,000200	21	13	0,000117
Биос-3 Г 3000 самец	РЭЛ	240,0000	355,0000	9,000000	-4,50069	0,000007	-4,57829	0,000005	21	13	0,000000

Приложение 4.

Данные по жизнеспособности потомства линии «Биос-3» после воздействия ионизирующими излучениями, статистический анализ по критерию Манна-Уитни (Продолжение).

		Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Z	p-value	Valid N	Valid N	2*1sided
Биос-3 1000 Р оба	ПЭЛ	246,0000	282,0000	15,00000	-3,96760	0,000073	-4,10696	0,000040	21	11	0,000010
Биос-3 1000 Р самка	ПЭЛ	292,0000	338,0000	61,00000	-2,87893	0,003990	-3,02667	0,002473	21	14	0,003068
Биос-3 1000 Р самец	ПЭЛ	261,0000	369,0000	30,00000	-3,92276	0,000088	-4,05406	0,000050	21	14	0,000022
Биос-3 2000 Р оба	ПЭЛ	246,0000	282,0000	15,00000	-3,96760	0,000073	-4,10696	0,000040	21	11	0,000010
Биос-3 2000 Р самка	ПЭЛ	246,0000	282,0000	15,00000	-3,96760	0,000073	-4,10696	0,000040	21	11	0,000010
Биос-3 2000 Р самец	ПЭЛ	279,0000	249,0000	48,00000	-2,65829	0,007854	-2,80620	0,005013	21	11	0,006383
Биос-3 3000 Р оба	ПЭЛ	278,0000	283,0000	47,00000	-2,93779	0,003306	-3,08572	0,002031	21	12	0,002367
Биос-3 3000 Р самка	ПЭЛ	267,0000	294,0000	36,00000	-3,34945	0,000810	-3,48455	0,000493	21	12	0,000412
Биос-3 3000 Р самец	ПЭЛ	351,0000	210,0000	120,0000	-0,205832	0,836922	-0,233397	0,815453	21	12	0,839348
Биос-3 Г 1000 оба	ПЭЛ	291,0000	237,0000	60,00000	-2,18218	0,029097	-2,33236	0,019682	21	11	0,027426
Биос-3 Г 1000 самка	ПЭЛ	282,0000	246,0000	51,00000	-2,53926	0,011109	-2,68055	0,007350	21	11	0,009477
Биос-3 Г 1000 самец	ПЭЛ	291,0000	237,0000	60,00000	-2,18218	0,029097	-2,33236	0,019682	21	11	0,027426
Биос-3 Г 2000 оба	ПЭЛ	246,0000	250,0000	15,00000	-3,78207	0,000156	-3,92898	0,000085	21	10	0,000030
Биос-3 Г 2000 самка	ПЭЛ	249,0000	247,0000	18,00000	-3,65529	0,000257	-3,79770	0,000146	21	10	0,000067
Биос-3 Г 2000 самец	ПЭЛ	298,0000	198,0000	67,00000	-1,58466	0,113044	-1,70591	0,088026	21	10	0,114132
Биос-3 Г 3000 оба	ПЭЛ	306,0000	289,0000	75,00000	-2,16175	0,030638	-2,31058	0,020857	21	13	0,029196
Биос-3 Г 3000 самка	ПЭЛ	306,0000	289,0000	75,00000	-2,16175	0,030638	-2,31058	0,020857	21	13	0,029196
Биос-3 Г 3000 самец	ПЭЛ	231,0000	364,0000	0,00	-4,81964	0,000001	-4,92852	0,000001	21	13	0,000000

Приложение 5.

Данные по жизнеспособности потомства линии «Белгород» после воздействия ионизирующими излучениями, статистический анализ по критерию Манна-Уитни.

		Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Z	p-value	Valid N	Valid N	2*1sided
Белгород 1000 Р оба	РЭЛ	111,0000	120,0000	54,00000	0,035209	0,971913	0,035209	0,971913	10	11	0,972539
Белгород 1000 Р самка	РЭЛ	96,00000	114,0000	41,00000	-0,642540	0,520523	-0,642781	0,520366	10	10	0,528849
Белгород 1000 Р самец	РЭЛ	129,0000	102,0000	36,00000	1,302731	0,192668	1,302731	0,192668	10	11	0,197116
Белгород 2000 Р оба	РЭЛ	98,00000	133,0000	43,00000	-0,809806	0,418053	-0,809806	0,418053	10	11	0,426167
Белгород 2000 Р самка	РЭЛ	138,0000	162,0000	57,00000	0,731925	0,464215	0,731925	0,464215	10	14	0,471586
Белгород 2000 Р самец	РЭЛ	123,0000	177,0000	68,00000	-0,087831	0,930011	-0,087850	0,929996	10	14	0,931394
Белгород 3000 Р оба	РЭЛ	142,0000	134,0000	43,00000	1,333373	0,182410	1,334693	0,181978	10	13	0,186210
Белгород 3000 Р самка	РЭЛ	100,0000	153,0000	45,00000	-0,956102	0,339022	-0,956102	0,339022	10	12	0,346279
Белгород 3000 Р самец	РЭЛ	130,0000	123,0000	45,00000	0,956102	0,339022	0,956102	0,339022	10	12	0,346279
Белгород Г 1000 оба	РЭЛ	80,00000	151,0000	25,00000	-2,07733	0,037772	-2,07733	0,037772	10	11	0,035700
Белгород Г 1000 самка	РЭЛ	102,0000	129,0000	47,00000	-0,528134	0,597407	-0,528134	0,597407	10	11	0,604730
Белгород Г 1000 самец	РЭЛ	138,0000	93,00000	27,00000	1,936492	0,052808	1,939012	0,052501	10	11	0,051344
Белгород Г 2000 оба	РЭЛ	123,0000	87,00000	32,00000	1,322876	0,185878	1,324869	0,185215	10	10	0,190316
Белгород Г 2000 самка	РЭЛ	161,0000	70,00000	4,000000	3,556103	0,000376	3,560730	0,000370	10	11	0,000068
Белгород Г 2000 самец	РЭЛ	148,0000	83,00000	17,00000	2,640670	0,008275	2,644107	0,008191	10	11	0,006192
Белгород Г 3000 оба	РЭЛ	94,00000	159,0000	39,00000	-1,35173	0,176463	-1,35173	0,176463	10	12	0,180194
Белгород Г 3000 самка	РЭЛ	100,0000	153,0000	45,00000	-0,956102	0,339022	-0,956102	0,339022	10	12	0,346279
Белгород Г 3000 самец	РЭЛ	130,0000	123,0000	45,00000	0,956102	0,339022	0,956102	0,339022	10	12	0,346279

Приложение 5.

Данные по жизнеспособности потомства линии «Белгород» после воздействия ионизирующими излучениями, статистический анализ по критерию Манна-Уитни (Продолжение).

		Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Z	p-value	Valid N	Valid N	2*1sided
Белгород 1000 Р оба	ПЭЛ	98,00000	133,0000	43,00000	-0,809806	0,418053	-0,809806	0,418053	10	11	0,426167
Белгород 1000 Р самка	ПЭЛ	139,0000	71,00000	16,00000	2,532362	0,011330	2,533315	0,011299	10	10	0,008931
Белгород 1000 Р самец	ПЭЛ	165,0000	66,00000	0,00	3,837774	0,000124	3,882143	0,000104	10	11	0,000006
Белгород 2000 Р оба	ПЭЛ	143,0000	88,00000	22,00000	2,288581	0,022104	2,291559	0,021932	10	11	0,019665
Белгород 2000 Р самка	ПЭЛ	158,0000	142,0000	37,00000	1,903005	0,057041	1,904662	0,056825	10	14	0,055911
Белгород 2000 Р самец	ПЭЛ	178,5000	121,5000	16,50000	3,103362	0,001914	3,117628	0,001823	10	14	0,000884
Белгород 3000 Р оба	ПЭЛ	125,0000	151,0000	60,00000	0,279078	0,780185	0,279840	0,779601	10	13	0,784444
Белгород 3000 Р самка	ПЭЛ	149,5000	103,5000	25,50000	2,241894	0,024969	2,242527	0,024928	10	12	0,020580
Белгород 3000 Р самец	ПЭЛ	160,0000	93,00000	15,00000	2,934243	0,003344	2,937562	0,003308	10	12	0,002013
Белгород Г 1000 оба	ПЭЛ	126,0000	105,0000	39,00000	1,091477	0,275064	1,095038	0,273501	10	11	0,281620
Белгород Г 1000 самка	ПЭЛ	145,0000	86,00000	20,00000	2,429417	0,015124	2,432578	0,014992	10	11	0,012718
Белгород Г 1000 самец	ПЭЛ	143,0000	88,00000	22,00000	2,288581	0,022104	2,291559	0,021932	10	11	0,019665
Белгород Г 2000 оба	ПЭЛ	106,0000	104,0000	49,00000	0,037796	0,969850	0,037939	0,969736	10	10	0,970512
Белгород Г 2000 самка	ПЭЛ	154,0000	77,00000	11,00000	3,063178	0,002190	3,098591	0,001945	10	11	0,001100
Белгород Г 2000 самец	ПЭЛ	157,0000	74,00000	8,000000	3,274431	0,001059	3,278692	0,001043	10	11	0,000380
Белгород Г 3000 оба	ПЭЛ	157,0000	96,00000	18,00000	2,736429	0,006211	2,736429	0,006211	10	12	0,004429
Белгород Г 3000 самка	ПЭЛ	149,5000	103,5000	25,50000	2,241894	0,024969	2,242527	0,024928	10	12	0,020580
Белгород Г 3000 самец	ПЭЛ	160,0000	93,00000	15,00000	2,934243	0,003344	2,937562	0,003308	10	12	0,002013

Приложение 6.

Данные по жизнеспособности потомства линий «Биос-3», «Белгород», «Host» после воздействия цитостатиками, статистический анализ по критерию Манна-Уитни.

		Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Z	p-value	Valid N	Valid N	2*1sided
Белгород МТХ	СИП	587,5000	687,5000	262,5000	-0,960441	0,336834	-0,960695	0,336706	25	25	0,335031
Белгород ГА	СИП	882,5000	392,5000	67,50000	4,743997	0,000002	4,796687	0,000002	25	25	0,000000
Белгород М-С	СИП	467,0000	808,0000	142,0000	-3,29848	0,000972	-3,30015	0,000966	25	25	0,000702
Белгород ЭТ	СИП	463,0000	812,0000	138,0000	-3,37610	0,000735	-3,37642	0,000734	25	25	0,000510
Белгород ЦФ	СИП	643,5000	631,5000	306,5000	0,106716	0,915015	0,106744	0,914992	25	25	0,908156
Биос-3 МТХ	СИП	875,0000	400,0000	75,00000	4,598475	0,000004	4,598807	0,000004	25	25	0,000001
Биос-3 ГА	СИП	901,0000	374,0000	49,00000	5,102950	0,000000	5,148266	0,000000	25	25	0,000000
Биос-3 М-С	СИП	660,0000	615,0000	290,0000	0,426863	0,669480	0,426873	0,669472	25	25	0,672140
Биос-3 ЭТ	СИП	730,0000	545,0000	220,0000	1,785062	0,074252	1,785148	0,074238	25	25	0,074081
Биос-3 ЦФ	СИП	874,5000	400,5000	75,50000	4,588774	0,000004	4,589105	0,000004	25	25	0,000001
Host МТХ	СИП	683,5000	591,5000	266,5000	0,882830	0,377329	0,884040	0,376675	25	25	0,375336
Host ГА	СИП	898,0000	377,0000	52,00000	5,044741	0,000000	5,188761	0,000000	25	25	0,000000
Host М-С	СИП	605,5000	669,5000	280,5000	-0,611190	0,541074	-0,611366	0,540958	25	25	0,537925
Host ЭТ	СИП	595,0000	680,0000	270,0000	-0,814920	0,415119	-0,814998	0,415074	25	25	0,418450
Host ЦФ	СИП	635,0000	400,0000	190,0000	1,359076	0,174124	1,359255	0,174067	25	20	0,175868
		Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Z	p-value	Valid N	Valid N	2*1sided
Белгород МТХ	РЭЛ	148,0000	152,0000	57,00000	-0,811112	0,417302	-0,833137	0,404768	13	11	0,424429
Белгород ГА	РЭЛ	162,0000	189,0000	71,00000	-0,666667	0,504986	-0,712470	0,476174	13	13	0,511438
Белгород М-С	РЭЛ	182,0000	94,00000	39,00000	1,581443	0,113778	1,796169	0,072469	13	10	0,115063
Белгород ЭТ	РЭЛ	144,0000	181,0000	53,00000	-1,33262	0,182656	-1,36448	0,172416	13	12	0,186070
Белгород ЦФ	РЭЛ	169,0000	131,0000	65,00000	0,347619	0,728126	0,360802	0,718248	13	11	0,732960
Биос-3 МТХ	РЭЛ	155,5000	144,5000	64,50000	-0,376588	0,706480	-0,383659	0,701232	13	11	0,690511
Биос-3 ГА	РЭЛ	186,0000	165,0000	74,00000	0,512821	0,608077	0,548054	0,583655	13	13	0,613870
Биос-3 М-С	РЭЛ	176,0000	100,0000	45,00000	1,209339	0,226534	1,280958	0,200209	13	10	0,231578
Биос-3 ЭТ	РЭЛ	146,0000	179,0000	55,00000	-1,22384	0,221014	-1,23724	0,216001	13	12	0,225414
Биос-3 ЦФ	РЭЛ	183,0000	117,0000	51,00000	1,158731	0,246567	1,218470	0,223046	13	11	0,251772
Host МТХ	РЭЛ	137,0000	163,0000	46,00000	-1,44841	0,147502	-1,48774	0,136819	13	11	0,149964
Host ГА	РЭЛ	164,5000	186,5000	73,50000	-0,538462	0,590259	-0,566889	0,570790	13	13	0,578767
Host М-С	РЭЛ	188,0000	88,00000	33,00000	1,953547	0,050756	2,157124	0,030997	13	10	0,049329
Host ЭТ	РЭЛ	136,0000	189,0000	45,00000	-1,76777	0,077101	-1,81003	0,070292	13	12	0,076840
Host ЦФ	РЭЛ	173,0000	127,0000	61,00000	0,579365	0,562343	0,609235	0,542369	13	11	0,569083

Приложение 6.

Данные по жизнеспособности потомства линий «Биос-3», «Белгород», «Host» после воздействия цитостатиками, статистический анализ по критерию Манна-Уитни

(Продолжение).

		Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Z	p-value	Valid N	Valid N	2*1sided
Белгород МТХ	ПЭЛ	148,0000	152,0000	57,00000	-0,811112	0,417302	-0,833137	0,404768	13	11	0,424429
Белгород ГА	ПЭЛ	199,5000	151,5000	60,50000	1,205128	0,228155	1,311438	0,189711	13	13	0,222568
Белгород М-С	ПЭЛ	179,0000	97,00000	42,00000	1,395391	0,162899	1,478029	0,139401	13	10	0,166064
Белгород ЭТ	ПЭЛ	184,0000	141,0000	63,00000	0,788696	0,430290	0,824516	0,409647	13	12	0,437102
Белгород ЦФ	ПЭЛ	184,5000	115,5000	49,50000	1,245636	0,212899	1,331145	0,183142	13	11	0,206602
Биос-3 МТХ	ПЭЛ	165,0000	135,0000	69,00000	0,115873	0,907753	0,116765	0,907046	13	11	0,909511
Биос-3 ГА	ПЭЛ	212,0000	139,0000	48,00000	1,846154	0,064871	1,919761	0,054889	13	13	0,064166
Биос-3 М-С	ПЭЛ	203,0000	73,00000	18,00000	2,883808	0,003929	2,924550	0,003450	13	10	0,002537
Биос-3 ЭТ	ПЭЛ	168,0000	157,0000	77,00000	-0,027196	0,978303	-0,027249	0,978261	13	12	0,978697
Биос-3 ЦФ	ПЭЛ	209,0000	91,00000	25,00000	2,665081	0,007697	2,737449	0,006192	13	11	0,005943
Host МТХ	ПЭЛ	154,0000	146,0000	63,00000	-0,463492	0,643012	-0,505189	0,613426	13	11	0,648978
Host ГА	ПЭЛ	205,0000	146,0000	55,00000	1,487179	0,136968	1,903738	0,056945	13	13	0,138869
Host М-С	ПЭЛ	178,5000	97,50000	42,50000	1,364382	0,172448	1,674332	0,094066	13	10	0,166064
Host ЭТ	ПЭЛ	154,5000	170,5000	63,50000	-0,761500	0,446359	-0,807188	0,419559	13	12	0,437102
Host ЦФ	ПЭЛ	186,5000	113,5000	47,50000	1,361509	0,173354	1,622284	0,104744	13	11	0,167410

Приложение 7.

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по 24 морфометрическим показателям крыла выборок P, F₁ и контроля в линии «Белгород» при воздействии метки ¹⁴C.

N=150	Discriminant Function Analysis Summary (C-14 f) No. of vars in model: 24; Grouping: line (3 grps) Wilks' Lambda: ,14943 approx. F (48,248)=8,1989 p<0,0000					
	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (2,124)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
AK	0,157405	0,949351	3,30774	0,039854	0,017702	0,982298
AB	0,162378	0,920278	5,37096	0,005794	0,009392	0,990608
AI	0,149699	0,998219	0,11059	0,895393	0,012247	0,987753
AE	0,161613	0,924633	5,05365	0,007764	0,062134	0,937866
AD	0,150231	0,994685	0,33128	0,718639	0,092216	0,907784
AT	0,159372	0,937634	4,12392	0,018452	0,480963	0,519037
AM	0,158515	0,942708	3,76800	0,025786	0,046572	0,953428
LM	0,155221	0,962710	2,40157	0,094778	0,089978	0,910022
LB	0,152303	0,981154	1,19093	0,307391	0,019282	0,980718
MB	0,161801	0,923561	5,13150	0,007225	0,022521	0,977479
KB	0,155707	0,959708	2,60301	0,078094	0,121185	0,878815
KI	0,149688	0,998296	0,10585	0,899644	0,123521	0,876479
KE	0,158518	0,942689	3,76934	0,025753	0,056600	0,943400
KD	0,156180	0,956798	2,79944	0,064694	0,065062	0,934937
KF	0,158248	0,944293	3,65756	0,028618	0,124805	0,875194
IE	0,152302	0,981160	1,19049	0,307522	0,061869	0,938131
FC	0,169355	0,882363	8,26582	0,000427	0,282963	0,717037
MN	0,149980	0,996350	0,22715	0,797129	0,589575	0,410425
21	0,150721	0,991454	0,53440	0,587366	0,236713	0,763287
22	0,150698	0,991605	0,52492	0,592910	0,154713	0,845287
23	0,181093	0,825170	13,13604	0,000007	0,079498	0,920502
24	0,153352	0,974444	1,62602	0,200876	0,127147	0,872853
25	0,166374	0,898177	7,02874	0,001284	0,072533	0,927468
26	0,149526	0,999375	0,03877	0,961988	0,092291	0,907709

Приложение 8.

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по 24 морфометрическим показателям крыла выборок P, F₁ и контроля в линии «Биос-3» при воздействии метки ¹⁴C.

N=150	Discriminant Function Analysis Summary (C-14 f)					
	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (2,124)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
AK	0,083389	0,910368	6,10433	0,002961	0,030370	0,969630
AB	0,076323	0,994645	0,33378	0,716855	0,010458	0,989542
AI	0,079308	0,957218	2,77105	0,066476	0,010043	0,989957
AE	0,075991	0,998995	0,06237	0,939562	0,044381	0,955619
AD	0,076761	0,988972	0,69137	0,502811	0,087359	0,912641
AT	0,079292	0,957411	2,75799	0,067312	0,449068	0,550932
AM	0,075954	0,999484	0,03201	0,968505	0,071631	0,928369
LM	0,075972	0,999248	0,04664	0,954443	0,075879	0,924121
LB	0,076369	0,994054	0,37088	0,690890	0,014443	0,985557
MB	0,077309	0,981965	1,13871	0,323556	0,013980	0,986020
KB	0,075940	0,999662	0,02099	0,979232	0,118641	0,881359
KI	0,079236	0,958076	2,71303	0,070275	0,096031	0,903969
KE	0,077668	0,977430	1,43167	0,242831	0,053000	0,947000
KD	0,078304	0,969487	1,95134	0,146423	0,058194	0,941806
KF	0,078853	0,962737	2,39973	0,094945	0,142697	0,857303
IE	0,076498	0,992374	0,47642	0,622133	0,070192	0,929808
FC	0,077025	0,985582	0,90699	0,406399	0,453455	0,546545
MN	0,076478	0,992631	0,46028	0,632181	0,565245	0,434755
21	0,088162	0,861079	10,00267	0,000094	0,301052	0,698948
22	0,080191	0,946677	3,49221	0,033460	0,161457	0,838543
23	0,083868	0,905164	6,49588	0,002075	0,165752	0,834248
24	0,076596	0,991102	0,55662	0,574567	0,216964	0,783037
25	0,080467	0,943420	3,71837	0,027021	0,105782	0,894218
26	0,076880	0,987443	0,78846	0,456809	0,087523	0,912477

Приложение 9.

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по линейным и двумерным морфометрическим показателям крыла выборок при воздействии рентген излучения в линии «Белгород» (показаны параметры, по которым были обнаружены достоверные отличия).

N=170	Discriminant Function Analysis Summary (Белгород f) No. of vars in model: 9; Grouping: line (4 grps) Wilks' Lambda: ,25636 approx. F (27,462)=10,161 p<0,0000					
	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (3,158)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
AK	0,257858	0,994182	0,30822	0,819424	0,050767	0,949233
AB	0,270369	0,948177	2,87854	0,037839	0,009663	0,990337
AI	0,259808	0,986720	0,70885	0,548076	0,036662	0,963338
AE	0,277936	0,922362	4,43312	0,005068	0,109625	0,890375
AD	0,408049	0,628251	31,16391	0,000000	0,442893	0,557107
AT	0,270625	0,947278	2,93121	0,035357	0,673595	0,326405
AM	0,306765	0,835681	10,35580	0,000003	0,055130	0,944870
LM	0,312714	0,819782	11,57806	0,000001	0,062319	0,937681
LB	0,259489	0,987930	0,64343	0,588193	0,012211	0,987789

N=176	Discriminant Function Analysis Summary (Белгород f) No. of vars in model: 4; Grouping: line (4 grps) Wilks' Lambda: ,63310 approx. F (12,447)=7,0320 p< ,0000					
	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (3,169)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
21	0,668672	0,946808	3,164807	0,025974	0,318060	0,681940
22	0,656965	0,963680	2,123159	0,099154	0,162652	0,837348
23	0,658795	0,961003	2,285955	0,080587	0,113078	0,886922
25	0,654914	0,966698	1,940646	0,124928	0,189409	0,810591

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по линейным морфометрическим показателям крыла выборок при воздействии гамма излучения в линии «Белгород» (показаны параметры, по которым были обнаружены достоверные отличия).

Discriminant Function Analysis Summary (Белгород f)						
No. of vars in model: 9; Grouping: line (4 grps)						
Wilks' Lambda: ,33931 approx. F (27,479)=7,9555 p<0,0000						
N=176	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (3,164)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
AK	0,346239	0,979981	1,11672	0,343975	0,049437	0,950563
AB	0,341632	0,993195	0,37453	0,771484	0,007806	0,992194
AI	0,343048	0,989097	0,60261	0,614198	0,009715	0,990285
AE	0,412175	0,823211	11,73993	0,000001	0,077210	0,922790
AD	0,375382	0,903900	5,81203	0,000846	0,506230	0,493770
AT	0,401825	0,844416	10,07232	0,000004	0,623574	0,376426
AM	0,347974	0,975093	1,39634	0,245822	0,092560	0,907440
LM	0,340420	0,996732	0,17922	0,910372	0,109782	0,890218
LB	0,339473	0,999511	0,02674	0,994075	0,017326	0,982674

Discriminant Function Analysis Summary (Белгород f)						
No. of vars in model: 3; Grouping: line (4 grps)						
Wilks' Lambda: ,07115 approx. F (9,399)=87,060 p<0,0000						
N=170	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (3,164)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
22	0,071332	0,997404	0,1423	0,934471	0,010150	0,989850
23	0,116376	0,611353	34,7525	0,000000	0,006039	0,993961
25	0,979027	0,072671	697,5828	0,000000	0,012863	0,987137

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по морфометрическим показателям крыла выборок при гамма излучении в линии «Биос-3».

N=200	Discriminant Function Analysis Summary (Биос-3 f)					
	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (3,173)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
AK	0,009918	0,973199	1,588069	0,194035	0,029634	0,970366
AB	0,009909	0,974071	1,535054	0,207174	0,012348	0,987652
AI	0,009808	0,984044	0,935056	0,425036	0,016369	0,983631
AE	0,009879	0,976966	1,359599	0,256852	0,068081	0,931919
AD	0,010129	0,952870	2,852286	0,038848	0,137457	0,862543
AT	0,010128	0,953003	2,843837	0,039275	0,654469	0,345531
AM	0,010436	0,924857	4,685325	0,003582	0,072243	0,927757
LM	0,009864	0,978468	1,269035	0,286613	0,105613	0,894387
LB	0,009695	0,995510	0,260066	0,854081	0,024810	0,975190
MB	0,009887	0,976182	1,406984	0,242442	0,023875	0,976125
KB	0,010191	0,947080	3,222259	0,024051	0,173509	0,826491
KI	0,010017	0,963546	2,181708	0,091945	0,171315	0,828685
KE	0,009749	0,990013	0,581705	0,627775	0,071685	0,928315
KD	0,009920	0,972931	1,604396	0,190150	0,079160	0,920840
KF	0,009938	0,971254	1,706756	0,167422	0,156589	0,843411
IE	0,009908	0,974158	1,529747	0,208534	0,072193	0,927806
FC	0,010093	0,956315	2,634250	0,051477	0,481026	0,518974
MN	0,010901	0,885409	7,463332	0,000100	0,608461	0,391539
21	0,009869	0,978014	1,296368	0,277314	0,210624	0,789376
22	0,010282	0,938694	3,766210	0,011854	0,142973	0,857027
23	0,010143	0,951543	2,936628	0,034832	0,108546	0,891454
24	0,009920	0,972951	1,603186	0,190435	0,162569	0,837431
25	0,009832	0,981717	1,073981	0,361589	0,080977	0,919023
26	0,009857	0,979163	1,227170	0,301408	0,066771	0,933229

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по морфометрическим показателям крыла выборок при рентген излучении в линии «Биос-3».

N=200	Discriminant Function Analysis Summary (Биос-3 f)					
	No. of vars in model: 18; Grouping: line (4 grps) Wilks' Lambda: ,17334 approx. F (54,534)=7,9204 p<0,0000					
	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (3,179)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
AK	0,178472	0,971239	1,766917	0,155156	0,021729	0,978271
AB	0,178117	0,973176	1,644641	0,180746	0,008825	0,991175
AI	0,177401	0,977101	1,398359	0,244880	0,011747	0,988253
AE	0,191704	0,904199	6,321762	0,000424	0,060344	0,939656
AD	0,195187	0,888064	7,520670	0,000091	0,143532	0,856468
AT	0,184657	0,938705	3,896083	0,009958	0,579712	0,420288
AM	0,179235	0,967101	2,029729	0,111389	0,060928	0,939072
LM	0,177150	0,978484	1,312031	0,271988	0,092740	0,907260
LB	0,178677	0,970122	1,837612	0,141981	0,016122	0,983878
MB	0,183607	0,944074	3,534574	0,015959	0,018441	0,981559
KB	0,194323	0,892015	7,223126	0,000133	0,193957	0,806043
KI	0,175356	0,988495	0,694460	0,556556	0,174241	0,825759
KE	0,178152	0,972980	1,656939	0,178001	0,049293	0,950707
KD	0,191910	0,903230	6,392548	0,000387	0,054229	0,945771
KF	0,178695	0,970026	1,843700	0,140898	0,092192	0,907808
IE	0,175091	0,989991	0,603253	0,613699	0,074158	0,925843
FC	0,184717	0,938402	3,916575	0,009696	0,399578	0,600422
MN	0,173908	0,996724	0,196129	0,898933	0,637573	0,362427

N=200	Discriminant Function Analysis Summary (Биос-3 f)					
	No. of vars in model: 6; Grouping: line (4 grps) Wilks' Lambda: ,45273 approx. F (18,540)=9,7138 p<0,0000					
	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (3,191)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
21	0,477383	0,948357	3,46699	0,017302	0,239434	0,760566
22	0,459041	0,986251	0,88755	0,448591	0,200022	0,799978
23	0,479105	0,944949	3,70913	0,012603	0,091515	0,908485
24	0,551993	0,820174	13,95919	0,000000	0,163330	0,836669
25	0,500914	0,903807	6,77611	0,000229	0,118451	0,881549
26	0,473184	0,956774	2,87641	0,037370	0,107461	0,892539

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по морфометрическим показателям крыла выборок при воздействии цитостатииков в линии «Host».

Parameters	Wilks'	Partial	F-remove	p-level	Toler.	1-Toler.
AK	0,056594	0,972732	1,14933	0,335587	0,039535	0,960465
AB	0,056497	0,974399	1,0772	0,374089	0,010915	0,989085
AI	0,057642	0,955047	1,92983	0,090792	0,021356	0,978644
AE	0,062037	0,887392	5,20281	0,000161	0,068786	0,931214
AD	0,055879	0,985176	0,61695	0,687025	0,151637	0,848363
AT	0,064087	0,859008	6,72946	0,000008	0,755354	0,244646
AM	0,05752	0,957085	1,83842	0,106798	0,090402	0,909598
LM	0,057523	0,957023	1,84119	0,106278	0,268933	0,731067
LB	0,057419	0,958755	1,7638	0,121762	0,029306	0,970694
MB	0,055988	0,983274	0,69744	0,625953	0,027796	0,972204
KB	0,057719	0,953777	1,98697	0,081956	0,159294	0,840706
KI	0,057232	0,961901	1,62392	0,155092	0,181204	0,818796
KE	0,059407	0,926675	3,24419	0,007677	0,068095	0,931905
KD	0,055265	0,996129	0,15932	0,97698	0,064244	0,935756
KF	0,068794	0,800229	10,23532	0	0,128713	0,871287
IE	0,056407	0,975956	1,01011	0,412755	0,090084	0,909916
FC	0,059155	0,930625	3,0564	0,011041	0,450975	0,549025
MN	0,061557	0,894316	4,84509	0,000328	0,698062	0,301938
21	0,249391	0,760305	13,68239	0	0,319014	0,680986
22	0,209563	0,904804	4,56617	0,000558	0,219375	0,780625
23	0,318794	0,594783	29,56779	0	0,12487	0,87513
24	0,235708	0,80444	10,55059	0	0,210038	0,789962
25	0,242983	0,780356	12,21566	0	0,200701	0,7993
26	0,226	0,838998	8,32838	0	0,179888	0,820112

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по морфометрическим показателям крыла выборок при воздействии цитостатииков в линии «Биос-3».

Parameters	Wilks'	Partial	F- remove	p-level	Toler.	1-Toler.
AK	0,070108	0,883603	7,271507	0,000002	0,041814	0,958187
AB	0,069495	0,891397	6,725278	0,000006	0,026668	0,973332
AI	0,063217	0,979922	1,130998	0,344099	0,029953	0,970047
AE	0,068585	0,903217	5,914882	0,000033	0,089889	0,910111
AD	0,064847	0,955289	2,583571	0,026433	0,215214	0,784787
AT	0,067945	0,911729	5,344319	0,000105	0,406517	0,593483
AM	0,063943	0,968788	1,778386	0,117353	0,500652	0,499348
LM	0,064051	0,967154	1,874664	0,098858	0,36094	0,63906
LB	0,066571	0,930541	4,120307	0,001263	0,027172	0,972828
MB	0,062783	0,986694	0,744376	0,590831	0,48159	0,51841
KB	0,064469	0,960879	2,247401	0,049936	0,22449	0,77551
KI	0,063422	0,976751	1,313912	0,258197	0,808451	0,191549
KE	0,07098	0,872748	8,048515	0	0,131347	0,868653
KD	0,064264	0,96395	2,064388	0,07007	0,098578	0,901423
KF	0,069672	0,88913	6,883174	0,000005	0,16521	0,83479
IE	0,06912	0,896224	6,391734	0,000012	0,143136	0,856864
FC	0,065237	0,949581	2,930902	0,0135	0,197428	0,802572
MN	0,069002	0,897766	6,285981	0,000015	0,540847	0,459153
21	0,132839	0,603536	37,969	0	0,398413	0,601587
22	0,101907	0,786734	15,66832	0	0,266367	0,733633
23	0,120433	0,665709	29,0247	0	0,184081	0,815919
24	0,087748	0,913681	5,46057	0,000081	0,441379	0,558621
25	0,133682	0,599732	38,57644	0	0,224669	0,775331
26	0,107389	0,746572	19,62051	0	0,256438	0,743562

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по морфометрическим показателям крыла выборок при воздействии цитостатииков в линии «Белгород».

Parameters	Wilks'	Partial	F- remove	p-value	Toler.	1-Toler.
AK	0,103941	0,935631	3,481152	0,00463	0,035967	0,964034
AB	0,100017	0,972341	1,43936	0,210562	0,019077	0,980924
AI	0,102766	0,946331	2,869665	0,015367	0,032611	0,96739
AE	0,103452	0,940048	3,227067	0,007647	0,157432	0,842568
AD	0,101862	0,954727	2,399447	0,037773	0,398881	0,601119
AT	0,105227	0,924195	4,150341	0,001217	0,763606	0,236395
AM	0,102451	0,949237	2,705957	0,021077	0,093114	0,906886
LM	0,100424	0,9684	1,651125	0,147023	0,098277	0,901723
LB	0,099105	0,981285	0,965022	0,439771	0,01934	0,98066
MB	0,098165	0,990677	0,476177	0,79389	0,027516	0,972484
KB	0,099092	0,981417	0,958127	0,444096	0,190098	0,809902
KI	0,098265	0,989672	0,528034	0,754972	0,212029	0,787971
KE	0,101644	0,95677	2,286251	0,046707	0,12456	0,87544
KD	0,099629	0,976125	1,23762	0,291922	0,295127	0,704873
KF	0,10502	0,926012	4,042923	0,00151	0,20603	0,79397
IE	0,104113	0,93408	3,570944	0,003875	0,319899	0,680101
FC	0,105819	0,919023	4,458449	0,000654	0,459824	0,540177
MN	0,105862	0,918652	4,480719	0,000626	0,746167	0,253833
21	0,294608	0,76475	16,30367	0	0,438252	0,561748
22	0,248316	0,907318	5,41394	0,000093	0,229129	0,770872
23	0,276559	0,814659	12,05793	0	0,174102	0,825899
24	0,246952	0,912331	5,09295	0,000178	0,260471	0,739529
25	0,252333	0,892873	6,35897	0,000013	0,229907	0,770093
26	0,236205	0,953837	2,56504	0,027485	0,23121	0,76879

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по морфометрическим показателям крыла выборок при воздействии гелъданамицина в линии «Биос-3».

	Wilks'	Partial	F-remove	p-value	Toler.	1-Toler.
AK	0,098473	0,885358	7,380720	0,000013	0,027760	0,972240
AB	0,089104	0,978449	1,255458	0,288425	0,014784	0,985216
AI	0,090162	0,966970	1,947039	0,103555	0,016607	0,983393
AE	0,091786	0,949860	3,008876	0,019067	0,057840	0,942160
AD	0,088909	0,980597	1,127850	0,344108	0,153749	0,846252
AT	0,090413	0,964282	2,111361	0,080244	0,655314	0,344686
AM	0,088775	0,982080	1,040100	0,387271	0,126750	0,873250
LM	0,090357	0,964885	2,074390	0,085008	0,136894	0,863107
LB	0,091527	0,952544	2,839737	0,025105	0,022739	0,977261
MB	0,088189	0,988598	0,657443	0,622197	0,036226	0,963774
KB	0,091149	0,956495	2,592578	0,037415	0,175141	0,824859
KI	0,089547	0,973611	1,544963	0,190062	0,195026	0,804974
KE	0,094838	0,919290	5,004377	0,000695	0,078657	0,921343
KD	0,088304	0,987311	0,732575	0,570563	0,077042	0,922958
KF	0,093334	0,934106	4,020926	0,003591	0,172878	0,827122
IE	0,098915	0,881401	7,669790	0,000008	0,121092	0,878908
FC	0,093853	0,928941	4,360225	0,002040	0,451003	0,548997
MN	0,097110	0,897782	6,489789	0,000058	0,695921	0,304079
21	0,270304	0,947430	3,32925	0,011206	0,433271	0,566729
22	0,282658	0,906021	6,22366	0,000088	0,290252	0,709748
23	0,294046	0,870931	8,89177	0,000001	0,164473	0,835528
24	0,290658	0,881082	8,09806	0,000004	0,236445	0,763555
25	0,336995	0,759934	18,95424	0,000000	0,206904	0,793096
26	0,297103	0,861970	9,60802	0,000000	0,166677	0,833323

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по морфометрическим показателям крыла выборок при воздействии гелданамицина в линии «Белгород».

	Wilks'	Partial	F-remove	p-value	Toler.	1-Toler.
AK	0,148103	0,926338	4,095243	0,003244	0,029157	0,970843
AB	0,140934	0,973458	1,404200	0,233785	0,011374	0,988626
AI	0,141814	0,967420	1,734377	0,143685	0,015922	0,984078
AE	0,141240	0,971353	1,518821	0,197931	0,066060	0,933940
AD	0,145144	0,945222	2,984543	0,020059	0,113525	0,886475
AT	0,139687	0,982148	0,936087	0,443970	0,649752	0,350249
AM	0,142370	0,963643	1,943014	0,104614	0,086211	0,913789
LM	0,145661	0,941870	3,178440	0,014635	0,106351	0,893649
LB	0,143625	0,955218	2,414400	0,050086	0,016321	0,983679
MB	0,143875	0,953562	2,508055	0,043160	0,029005	0,970995
KB	0,140730	0,974870	1,327558	0,260861	0,148952	0,851048
KI	0,142122	0,965321	1,850108	0,120588	0,218587	0,781413
KE	0,151573	0,905133	5,397727	0,000375	0,094013	0,905987
KD	0,146766	0,934775	3,593461	0,007419	0,056430	0,943570
KF	0,152174	0,901558	5,623352	0,000258	0,121020	0,878980
IE	0,154687	0,886911	6,566689	0,000054	0,142524	0,857476
FC	0,153951	0,891149	6,290569	0,000085	0,444378	0,555622
MN	0,140888	0,973778	1,386796	0,239707	0,611209	0,388791
21	0,306389	0,987569	0,68602	0,602334	0,461357	0,538643
22	0,374123	0,808772	12,88609	0,000000	0,237819	0,762181
23	0,364749	0,829556	11,19781	0,000000	0,156156	0,843845
24	0,422759	0,715727	21,64631	0,000000	0,219253	0,780747
25	0,329058	0,919534	4,76915	0,001044	0,152636	0,847364
26	0,332380	0,910345	5,36743	0,000385	0,178940	0,821060

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по морфометрическим показателям крыла выборок при воздействии гелданамицина в линии «Host».

	Wilks'	Partial	F-remove	p-value	Toler.
AK	0,149676	0,985627	0,733981	0,533279	0,048405
AB	0,150670	0,979121	1,073298	0,362303	0,012514
AI	0,154358	0,955729	2,331516	0,076501	0,033543
AE	0,153175	0,963111	1,927865	0,127470	0,074431
AD	0,154028	0,957779	2,218808	0,088280	0,105855
AT	0,157783	0,934980	3,500265	0,017057	0,593734
AM	0,150380	0,981010	0,974349	0,406560	0,085312
LM	0,148301	0,994766	0,264843	0,850648	0,115489
LB	0,149059	0,989703	0,523674	0,666653	0,023348
MB	0,151975	0,970712	1,518627	0,211997	0,041837
KB	0,149443	0,987165	0,654454	0,581350	0,192430
KI	0,158646	0,929898	3,794479	0,011668	0,210511
KE	0,166562	0,885702	6,495386	0,000366	0,083079
KD	0,153849	0,958893	2,157780	0,095380	0,061255
KF	0,161213	0,915089	4,670448	0,003771	0,146188
IE	0,161647	0,912633	4,818480	0,003117	0,141587
FC	0,151527	0,973582	1,365772	0,255477	0,509754
MN	0,166229	0,887478	6,381664	0,000423	0,657585
21	0,166721	0,973191	1,49677	0,217422	0,389006
22	0,164649	0,985438	0,80292	0,493925	0,259668
23	0,233119	0,696003	23,73142	0,000000	0,139095
24	0,208541	0,778032	15,50100	0,000000	0,199122
25	0,253386	0,640334	30,51818	0,000000	0,143557
26	0,282881	0,573569	40,39511	0,000000	0,139675

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по морфометрическим показателям крыла выборок при длительной селекции в присутствии метотрексата в линиях «Host», «Белгород», «Биос-3».

Биос-3 L							
	Wilks'	Partial	F-remove	p-level	Toler.	1-Toler.	осторожно
AK	0,168320	0,968785	1,321050	0,272474	0,034925	0,965075	нет
AB	0,164968	0,988470	0,478225	0,621600	0,020541	0,979459	нет
AI	0,166202	0,981135	0,788328	0,458019	0,022832	0,977169	нет
AE	0,174538	0,934275	2,884308	0,061583	0,058238	0,941762	нет
AD	0,164605	0,990650	0,386964	0,680349	0,222309	0,777691	нет
AT	0,171428	0,951220	2,102559	0,128681	0,782258	0,217742	нет
AM	0,165980	0,982442	0,732741	0,483710	0,120153	0,879847	нет
LM	0,164242	0,992843	0,295542	0,744917	0,200387	0,799613	нет
LB	0,164702	0,990070	0,411231	0,664193	0,029157	0,970843	нет
MB	0,164380	0,992010	0,330234	0,719707	0,039043	0,960957	нет
KB	0,178901	0,911489	3,981369	0,022377	0,167333	0,832667	да
KI	0,175440	0,929471	3,111126	0,049850	0,208811	0,791189	да
KE	0,169104	0,964294	1,518161	0,225209	0,081468	0,918532	нет
KD	0,165957	0,982583	0,726744	0,486568	0,134527	0,865473	нет
KF	0,165013	0,988202	0,489496	0,614715	0,183446	0,816554	нет
IE	0,172453	0,945567	2,360242	0,100781	0,049055	0,950945	нет
FC	0,192454	0,847298	7,389138	0,001121	0,444422	0,555578	да
MN	0,181494	0,898465	4,633378	0,012404	0,650693	0,349307	да
Host L							
	Wilks'	Partial	F-remove	p-level	Toler.	1-Toler.	осторожно
AK	0,132581	0,943354	3,15252	0,046818	0,027272	0,972728	да
AB	0,127250	0,982879	0,91452	0,403878	0,013745	0,986256	нет
AI	0,127407	0,981667	0,98047	0,378541	0,022134	0,977866	нет
AE	0,131420	0,951687	2,66518	0,074293	0,062175	0,937825	нет
AD	0,127286	0,982597	0,92984	0,397843	0,169603	0,830397	нет
AT	0,129975	0,962270	2,05848	0,132769	0,592841	0,407159	нет
AM	0,142879	0,875363	7,47509	0,000922	0,120662	0,879338	да
LM	0,128433	0,973824	1,41120	0,248437	0,172510	0,827490	нет
LB	0,127200	0,983262	0,89371	0,412223	0,022605	0,977395	нет
MB	0,126925	0,985392	0,77829	0,461823	0,019409	0,980591	нет
KB	0,129309	0,967226	1,77893	0,173870	0,079971	0,920029	нет
KI	0,134634	0,928967	4,01438	0,020894	0,139505	0,860495	да
KE	0,128381	0,974217	1,38945	0,253755	0,084665	0,915336	нет
KD	0,127089	0,984124	0,84696	0,431623	0,057422	0,942578	нет
KF	0,142341	0,878673	7,24919	0,001124	0,088116	0,911884	да
IE	0,125767	0,994462	0,29237	0,747102	0,077479	0,922521	нет
FC	0,158304	0,790067	13,95008	0,000004	0,459210	0,540790	да
MN	0,132879	0,941241	3,27745	0,041618	0,692053	0,307947	да
Белгород L							
	Wilks'	Partial	F-remove	p-level	Toler.	1-Toler.	осторожно
AK	0,048591	0,989312	0,52937	0,590651	0,023724	0,976276	нет
AB	0,048513	0,990903	0,44987	0,639021	0,010863	0,989137	нет
AI	0,049330	0,974487	1,28289	0,281850	0,016703	0,983297	нет
AE	0,050844	0,945466	2,82631	0,064068	0,053953	0,946048	нет
AD	0,067844	0,708560	20,15436	0,000000	0,211991	0,788009	да
AT	0,050095	0,959608	2,06252	0,132617	0,588465	0,411535	нет
AM	0,057924	0,829912	10,04240	0,000108	0,078794	0,921206	да
LM	0,048378	0,993676	0,31184	0,732826	0,124557	0,875443	нет
LB	0,048106	0,999284	0,03509	0,965527	0,020308	0,979692	нет
MB	0,048839	0,984280	0,78261	0,460049	0,029371	0,970630	нет
KB	0,058244	0,825350	10,36875	0,000082	0,178498	0,821502	да
KI	0,049936	0,962668	1,90022	0,155005	0,210970	0,789030	нет
KE	0,050987	0,942823	2,97158	0,055857	0,068480	0,931520	нет
KD	0,048280	0,995687	0,21224	0,809140	0,084871	0,915129	нет
KF	0,050631	0,949454	2,60862	0,078744	0,138586	0,861414	нет
IE	0,049218	0,976704	1,16873	0,315055	0,066937	0,933063	нет
FC	0,054144	0,887856	6,18912	0,002943	0,416003	0,583997	да
MN	0,049077	0,979509	1,02504	0,362596	0,658797	0,341203	нет

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по морфометрическим показателям крыла выборок при длительной селекции в присутствии метотрексата и гетерозигот по *vestigial* в линиях «Host», «Белгород», «Биос-3», «Детярск».

Биос-3							Белгород						
	Wilks'	Partial	F-remove	p-value	Toler.	1-Toler.		Wilks'	Partial	F-remove	p-value	Toler.	1-Toler.
AK	0,126837	0,971859	1,72769	0,162963	0,018128	0,981872	AK	0,166310	0,971558	1,317345	0,271388	0,057508	0,942492
AB	0,126627	0,973468	1,62623	0,184930	0,007805	0,992195	AB	0,162910	0,991833	0,370542	0,774381	0,032523	0,967477
AI	0,124212	0,992393	0,45737	0,712422	0,012996	0,987004	AI	0,166808	0,968657	1,456091	0,229405	0,031439	0,968562
AE	0,126941	0,971063	1,77804	0,153010	0,061042	0,938958	AE	0,173098	0,933457	3,207879	0,025208	0,131112	0,868888
AD	0,139052	0,886485	7,64033	0,000078	0,211710	0,788290	AD	0,186514	0,866314	6,944234	0,000221	0,223142	0,776858
AT	0,139670	0,882565	7,93928	0,000053	0,653559	0,346441	AT	0,181854	0,888512	5,646495	0,001125	0,729458	0,270542
AM	0,129071	0,955039	2,80897	0,040980	0,094979	0,905021	AM	0,179694	0,899194	5,044817	0,002412	0,137295	0,862705
LM	0,134871	0,913964	5,61675	0,001057	0,087669	0,912331	LM	0,183466	0,880705	6,095454	0,000639	0,121478	0,878522
LB	0,128091	0,962345	2,33469	0,075501	0,009780	0,990220	LB	0,167437	0,965018	1,631261	0,185080	0,017459	0,982541
MB	0,123740	0,996181	0,22873	0,876310	0,011441	0,988559	MB	0,164401	0,982839	0,785710	0,503878	0,025812	0,974188
KB	0,128683	0,957917	2,62125	0,052230	0,137348	0,862652	KB	0,181000	0,892703	5,408733	0,001520	0,182457	0,817543
KI	0,125632	0,981181	1,14442	0,332594	0,157509	0,842491	KI	0,174333	0,926845	3,551813	0,016230	0,208304	0,791696
KE	0,123980	0,994250	0,34507	0,792758	0,063734	0,936266	KE	0,178736	0,904014	4,778007	0,003386	0,103444	0,896556
KD	0,145538	0,846977	10,77994	0,000002	0,052410	0,947590	KD	0,192678	0,838596	8,661116	0,000027	0,101425	0,898575
KF	0,141789	0,869375	8,96501	0,000015	0,090450	0,909550	KF	0,184804	0,874328	6,468120	0,000401	0,191708	0,808292
IE	0,123875	0,995096	0,29406	0,829659	0,044306	0,955694	IE	0,163738	0,986814	0,601287	0,615256	0,109348	0,890652
FC	0,137644	0,895554	6,95876	0,000187	0,345984	0,654016	FC	0,164860	0,980098	0,913770	0,436189	0,556407	0,443593
MN	0,131528	0,937195	3,99849	0,008712	0,700471	0,299529	MN	0,166536	0,970237	1,380431	0,251484	0,723800	0,276200
21	0,026483	0,854814	10,81349	0,000001	0,205738	0,794262	21	0,038450	0,987279	0,63135	0,595907	0,578731	0,421269
22	0,024300	0,931607	4,67404	0,003559	0,257707	0,742293	22	0,044299	0,856909	8,18228	0,000045	0,399800	0,600200
23	0,029109	0,777719	18,19666	0,000000	0,143582	0,856418	23	0,046042	0,824484	10,43110	0,000003	0,298637	0,701363
24	0,027054	0,836767	12,41988	0,000000	0,321484	0,678516	24	0,044076	0,861258	7,89354	0,000064	0,548308	0,451692
25	0,050719	0,446346	78,97318	0,000000	0,222761	0,777239	25	0,065754	0,577314	35,87577	0,000000	0,343732	0,656268
26	0,023517	0,962654	2,46995	0,063245	0,217676	0,782324	26	0,038223	0,993143	0,33833	0,797643	0,264609	0,735391
Host							Детярск						
	Wilks'	Partial	F-remove	p-value	Toler.	1-Toler.		Wilks'	Partial	F-remove	p-value	Toler.	1-Toler.
AK	0,045049	0,991131	0,45042	0,717367	0,046857	0,953143	AK	0,079777	0,820798	13,02682	0,000000	0,044745	0,955255
AB	0,045291	0,985834	0,72328	0,539569	0,012507	0,987493	AB	0,069143	0,947029	3,33739	0,020633	0,021148	0,978852
AI	0,047211	0,945734	2,88810	0,037529	0,029501	0,970499	AI	0,073422	0,891833	7,23676	0,000131	0,063349	0,936651
AE	0,046655	0,956995	2,26185	0,083586	0,126633	0,873367	AE	0,068523	0,955598	2,77241	0,042966	0,248810	0,751190
AD	0,048136	0,927552	3,93137	0,009778	0,268962	0,731038	AD	0,066653	0,982411	1,06826	0,363933	0,389367	0,610633
AT	0,057576	0,775487	14,57216	0,000000	0,697965	0,302036	AT	0,067397	0,971569	1,74603	0,159267	0,785684	0,214316
AM	0,046689	0,956311	2,29946	0,079684	0,114070	0,885930	AM	0,073504	0,890841	7,31124	0,000119	0,128143	0,871857
LM	0,046418	0,961887	1,99438	0,117241	0,085477	0,914524	LM	0,075657	0,865497	9,27254	0,000010	0,129770	0,870230
LB	0,045030	0,991536	0,42964	0,732056	0,010911	0,989089	LB	0,066238	0,988569	0,68994	0,559299	0,017400	0,982600
MB	0,045070	0,990667	0,47418	0,700726	0,020583	0,979417	MB	0,066873	0,979177	1,26885	0,286559	0,020330	0,979670
KB	0,048245	0,925455	4,05431	0,008343	0,204340	0,795660	KB	0,076873	0,851804	10,38077	0,000002	0,100697	0,899303
KI	0,045567	0,979861	1,03451	0,379124	0,211994	0,788006	KI	0,068594	0,954613	2,83687	0,039527	0,452701	0,547300
KE	0,052919	0,843720	9,32314	0,000011	0,075819	0,924181	KE	0,073673	0,888803	7,46484	0,000098	0,174739	0,825261
KD	0,047649	0,937036	3,38215	0,019864	0,096323	0,903677	KD	0,070777	0,925164	4,82641	0,002957	0,150936	0,849065
KF	0,054780	0,815062	11,42067	0,000001	0,124446	0,875554	KF	0,076788	0,852743	10,30360	0,000003	0,121148	0,878852
IE	0,050065	0,891813	6,10598	0,000600	0,059172	0,940828	IE	0,083171	0,787304	16,11941	0,000000	0,101170	0,898830
FC	0,048876	0,913510	4,76552	0,003336	0,423433	0,576567	FC	0,065832	0,994654	0,32070	0,810401	0,548297	0,451703
MN	0,067004	0,666361	25,20127	0,000000	0,661331	0,338669	MN	0,079560	0,823031	12,82960	0,000000	0,788266	0,211734
21	0,015925	0,788342	14,5877	0,000000	0,492151	0,507850	21	0,048262	0,931589	4,6753	0,003553	0,435654	0,564346
22	0,015181	0,826964	11,3689	0,000001	0,286053	0,713947	22	0,046774	0,961216	2,5688	0,055667	0,214369	0,785631
23	0,014875	0,843976	10,0445	0,000004	0,241226	0,758775	23	0,047881	0,939001	4,1359	0,007206	0,247997	0,752003
24	0,016941	0,741025	18,9885	0,000000	0,428896	0,571104	24	0,048647	0,924204	5,2214	0,001738	0,441118	0,558882
25	0,075418	0,166459	272,0733	0,000000	0,235975	0,764025	25	0,122309	0,367594	109,5317	0,000000	0,438529	0,561471
26	0,014126	0,888736	6,8022	0,000239	0,239190	0,760811	26	0,052798	0,851542	11,0996	0,000001	0,394488	0,605512

Приложение 21.

Площади и КФА имагинальных крыловых дисков самок линии «Биос-3» после
воздействия гамма-излучением и в контроле.

Биос-3 гамма 3000, самки					
облучённые					
№	самка пр.	самка лев.	разница	сред	КФА
1	0,305	0,283	0,022	0,294	0,074829932
2	0,279	0,265	0,014	0,272	0,051470588
3	0,273	0,264	0,009	0,2685	0,033519553
4	0,188	0,189	0,001	0,1885	0,00530504
5	0,242	0,21	0,032	0,226	0,14159292
6	0,308	0,22	0,088	0,264	0,333333333
7	0,285	0,263	0,022	0,274	0,080291971
8	0,276	0,26	0,016	0,268	0,059701493
9	0,339	0,358	0,019	0,3485	0,054519369
10	0,206	0,235	0,029	0,2205	0,131519274
11	0,219	0,301	0,082	0,26	0,315384615
12	0,1574	0,198	0,0406	0,1777	0,228474958
13	0,231	0,234	0,003	0,2325	0,012903226
14	0,401	0,342	0,059	0,3715	0,158815612
15	0,323	0,296	0,027	0,3095	0,08723748
16	0,319	0,208	0,111	0,2635	0,421252372
17	0,256	0,239	0,017	0,2475	0,068686869
18	0,26	0,242	0,018	0,251	0,071713147
19	0,257	0,244	0,013	0,2505	0,051896208
20	0,151	0,184	0,033	0,1675	0,197014925
сред	0,264	0,252	0,033	0,258	0,129
	0,401	0,358	0,111	0,372	0,421
	0,151	0,184	0,001	0,168	0,005
контроль					
	самка пр.	самка лев.	разница	сред	КФА
1	0,404	0,322	0,082	0,363	0,225895317
2	0,277	0,329	0,052	0,303	0,171617162
3	0,259	0,301	0,042	0,28	0,15
4	0,243	0,265	0,022	0,254	0,086614173
5	0,321	0,396	0,075	0,3585	0,209205021
6	0,215	0,216	0,001	0,2155	0,004640371
7	0,229	0,249	0,02	0,239	0,083682008
8	0,226	0,255	0,029	0,2405	0,120582121
9	0,234	0,244	0,01	0,239	0,041841004
10	0,324	0,261	0,063	0,2925	0,215384615
11	0,334	0,3676	0,0336	0,3508	0,095781072
12	0,311	0,272	0,039	0,2915	0,133790738
13	0,1907	0,203	0,0123	0,19685	0,062484125
14	0,281	0,307	0,026	0,294	0,088435374
15	0,284	0,215	0,069	0,2495	0,276553106
16	0,3	0,264	0,036	0,282	0,127659574
17	0,214	0,211	0,003	0,2125	0,014117647
18	0,345	0,299	0,046	0,322	0,142857143
19	0,219	0,226	0,007	0,2225	0,031460674
20	0,257	0,261	0,004	0,259	0,015444015
сред	0,273	0,273	0,034	0,273	0,115
	0,404	0,396	0,082	0,363	0,277
	0,191	0,203	0,001	0,197	0,005

Площади и КФА имагинальных крыловых дисков самок линии «Белгород»

после воздействия гамма-излучением и в контроле.

Белгород гамма 3000, самки

№	облучённые		разница	сред	КФА	
	самка пр.	самка лев.				
1	0,342	0,368	0,026	0,355	0,073239437	
2	0,314	0,292	0,022	0,303	0,072607261	
3	0,197	0,226	0,029	0,2115	0,137115839	
4	0,219	0,316	0,097	0,2675	0,362616822	
5	0,255	0,21	0,045	0,2325	0,193548387	
6	0,304	0,271	0,033	0,2875	0,114782609	
7	0,164	0,163	0,001	0,1635	0,006116208	
8	0,194	0,212	0,018	0,203	0,088669951	
9	0,336	0,299	0,037	0,3175	0,116535433	
10	0,205	0,2	0,005	0,2025	0,024691358	
11	0,285	0,344	0,059	0,3145	0,187599364	
12	0,258	0,21	0,048	0,234	0,205128205	
13	0,213	0,372	0,159	0,2925	0,543589744	
14	0,328	0,344	0,016	0,336	0,047619048	
15	0,313	0,335	0,022	0,324	0,067901235	
16	0,328	0,312	0,016	0,32	0,05	
17	0,417	0,384	0,033	0,4005	0,082397004	
18	0,366	0,325	0,041	0,3455	0,118668596	
19	0,364	0,357	0,007	0,3605	0,019417476	
20	0,315	0,334	0,019	0,3245	0,058551618	
сред	0,286	0,294	0,037	0,290	0,129	
	0,417	0,384	0,159	0,401	0,544	max
	0,164	0,163	0,001	0,164	0,006	min

	контроль		разница	сред	КФА	
	самка пр.	самка лев.				
1	0,287	0,283	0,004	0,285	0,014035088	
2	0,183	0,287	0,104	0,235	0,442553191	
3	0,27	0,362	0,092	0,316	0,291139241	
4	0,255	0,32	0,065	0,2875	0,226086957	
5	0,244	0,259	0,015	0,2515	0,059642147	
6	0,233	0,219	0,014	0,226	0,061946903	
7	0,263	0,291	0,028	0,277	0,101083032	
8	0,231	0,253	0,022	0,242	0,090909091	
9	0,283	0,271	0,012	0,277	0,0433213	
10	0,336	0,314	0,022	0,325	0,067692308	
11	0,259	0,259	0	0,259	0	
12	0,409	0,357	0,052	0,383	0,135770235	
13	0,469	0,355	0,114	0,412	0,276699029	
14	0,201	0,359	0,158	0,28	0,564285714	
15	0,53	0,39	0,14	0,46	0,304347826	
16	0,346	0,306	0,04	0,326	0,122699387	
17	0,314	0,27	0,044	0,292	0,150684932	
18	0,319	0,305	0,014	0,312	0,044871795	
19	0,251	0,174	0,077	0,2125	0,362352941	
20	0,273	0,232	0,041	0,2525	0,162376238	
сред	0,2978	0,2933	0,0529	0,29555	0,176124868	
	0,53	0,39	0,158	0,46	0,564285714	max
	0,183	0,174	0	0,2125	0	min

Площади и КФА имагинальных крыловых дисков самцов линии «Биос-3»

после воздействия гамма-излучением и в контроле.

Биос-3, гамма 3000Р, самцы					
№	самец пр	самец лев	разница	сред	КФА
1	0,249	0,205	0,044	0,227	0,194
2	0,257	0,236	0,021	0,2465	0,085
3	0,263	0,54	0,277	0,4015	0,690
4	0,275	0,3	0,025	0,2875	0,087
5	0,169	0,685	0,516	0,427	1,208
6	0,239	0,267	0,028	0,253	0,111
7	0,228	0,199	0,029	0,2135	0,136
8	0,242	0,212	0,03	0,227	0,132
9	0,301	0,291	0,01	0,296	0,034
10	0,357	0,267	0,09	0,312	0,288
11	0,292	0,309	0,017	0,3005	0,057
12	0,236	0,239	0,003	0,2375	0,013
13	0,235	0,246	0,011	0,2405	0,046
14	0,169	0,186	0,017	0,1775	0,096
15	0,183	0,14	0,043	0,1615	0,266
16	0,252	0,278	0,026	0,265	0,098
17	0,175	0,169	0,006	0,172	0,035
18	0,28	0,279	0,001	0,2795	0,004
19	0,245	0,256	0,011	0,2505	0,044
20	0,292	0,291	0,001	0,2915	0,003
сред	0,247	0,280	0,060	0,263	0,181
max	0,357	0,685	0,516	0,427	1,208
min	0,169	0,140	0,001	0,162	0,003

контроль					
	самец пр	самец лев	разница	сред	КФА
1	0,238	0,242	0,004	0,24	0,017
2	0,309	0,306	0,003	0,3075	0,010
3	0,153	0,211	0,058	0,182	0,319
4	0,228	0,234	0,006	0,231	0,026
5	0,276	0,249	0,027	0,2625	0,103
6	0,217	0,215	0,002	0,216	0,009
7	0,254	0,298	0,044	0,276	0,159
8	0,236	0,256	0,02	0,246	0,081
9	0,254	0,203	0,051	0,2285	0,223
10	0,24	0,259	0,019	0,2495	0,076
11	0,235	0,261	0,026	0,248	0,105
12	0,303	0,256	0,047	0,2795	0,168
13	0,226	0,209	0,017	0,2175	0,078
14	0,286	0,312	0,026	0,299	0,087
15	0,22	0,177	0,043	0,1985	0,217
16	0,249	0,215	0,034	0,232	0,147
17	0,237	0,224	0,013	0,2305	0,056
18	0,311	0,272	0,039	0,2915	0,134
19	0,255	0,205	0,05	0,23	0,217
20	0,274	0,249	0,025	0,2615	0,096
сред	0,250	0,243	0,028	0,246	0,116
max	0,311	0,312	0,058	0,308	0,319
min	0,153	0,177	0,002	0,182	0,009

Приложение 24.

Площади и КФА имагинальных крыловых дисков самцов линии «Белгород»

после воздействия гамма-излучением и в контроле.

Белгород, гамма 3000Р, самцы					
№	самец пр	самец лев	разница	сред	КФА
1	0,196	0,196	0	0,196	0,000
2	0,246	0,27	0,024	0,258	0,093
3	0,172	0,178	0,006	0,175	0,034
4	0,171	0,172	0,001	0,1715	0,006
5	0,171	0,259	0,088	0,215	0,409
6	0,225	0,227	0,002	0,226	0,009
7	0,32	0,298	0,022	0,309	0,071
8	0,2	0,244	0,044	0,222	0,198
9	0,347	0,343	0,004	0,345	0,012
10	0,288	0,281	0,007	0,2845	0,025
11	0,307	0,318	0,011	0,3125	0,035
12	0,289	0,315	0,026	0,302	0,086
13	0,232	0,232	0	0,232	0,000
14	0,311	0,391	0,08	0,351	0,228
15	0,265	0,256	0,009	0,2605	0,035
16	0,31	0,32	0,01	0,315	0,032
17	0,237	0,225	0,012	0,231	0,052
18	0,217	0,226	0,009	0,2215	0,041
19	0,329	0,276	0,053	0,3025	0,175
20	0,339	0,343	0,004	0,341	0,012
сред	0,2586	0,2685	0,0206	0,26355	0,078
max	0,347	0,391	0,088	0,351	0,409
min	0,171	0,172	0	0,1715	0,000

контроль					
	самец пр	самец лев	разница	сред	КФА
1	0,377	0,311	0,066	0,344	0,192
2	0,218	0,256	0,038	0,237	0,160
3	0,222	0,161	0,061	0,1915	0,319
4	0,229	0,213	0,016	0,221	0,072
5	0,234	0,204	0,03	0,219	0,137
6	0,248	0,151	0,097	0,1995	0,486
7	0,217	0,257	0,04	0,237	0,169
8	0,21	0,209	0,001	0,2095	0,005
9	0,174	0,263	0,089	0,2185	0,407
10	0,2	0,305	0,105	0,2525	0,416
11	0,242	0,24	0,002	0,241	0,008
12	0,195	0,202	0,007	0,1985	0,035
13	0,241	0,353	0,112	0,297	0,377
14	0,149	0,146	0,003	0,1475	0,020
15	0,188	0,212	0,024	0,2	0,120
16	0,115	0,155	0,04	0,135	0,296
17	0,298	0,287	0,011	0,2925	0,038
18	0,219	0,199	0,02	0,209	0,096
19	0,118	0,177	0,059	0,1475	0,400
20	0,279	0,207	0,072	0,243	0,296
сред	0,21865	0,2254	0,04465	0,222025	0,202
max	0,377	0,353	0,112	0,344	0,486
min	0,115	0,146	0,001	0,135	0,005

Приложение 25.

Значения основных статистических параметров по критерию Стьюдента по КФА площадей имагинальных крыловых дисков выборок при воздействии гамма-излучением и в контроле в линиях «Белгород», «Биос-3» с учетом половых различий.

	Mean	Mean	t-value	df	p	Valid N	Valid N	Std.Dev.	F-ratio
КФА самки 26,31 Гр Биос-3 vs. КФА самки контроль Биос-3	0,128973	0,114902	0,454032	38	0,652389	20	20	0,115086	2,220732
	Mean	Mean	t-value	df	p	Valid N	Valid N	Std.Dev.	F-ratio
КФА самки 26,31 Гр Белгород vs. КФА самки контроль Белгород	0,128540	0,176125	-1,06588	38	0,293202	20	20	0,127737	1,442960
	Mean	Mean	t-value	df	p	Valid N	Valid N	Std.Dev.	F-ratio
КФА самцы 26,31 Гр Биос-3 vs. КФА самцы контроль Биос-3	0,181350	0,116400	0,974058	38	0,336188	20	20	0,286602	12,10944
	Mean	Mean	t-value	df	p	Valid N	Valid N	Std.Dev.	F-ratio
КФА самцы 26,31 Гр Белгород vs. КФА самцы контроль Белгород	0,077650	0,202450	-2,95960	38	0,005280	20	20	0,102504	2,384632